

**VERFAHREN UND UNTERSUCHUNGEN
ZUR KONSERVIERUNG VON
SPENDERHERZEN DURCH
HYPOTHERME ASANGUINE PERFUSION**

1977
—

Arthur Wischnik
—



AUS DER KLINIK FÜR HERZ- UND GEFÄSSCHIRURGIE
AM DEUTSCHEN HERZZENTRUM MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. med. F. Sebening

VERFAHREN UND UNTERSUCHUNGEN
ZUR KONSERVIERUNG VON SPENDERHERZEN
DURCH HYPOTHERME ASANGUINE PERFUSION

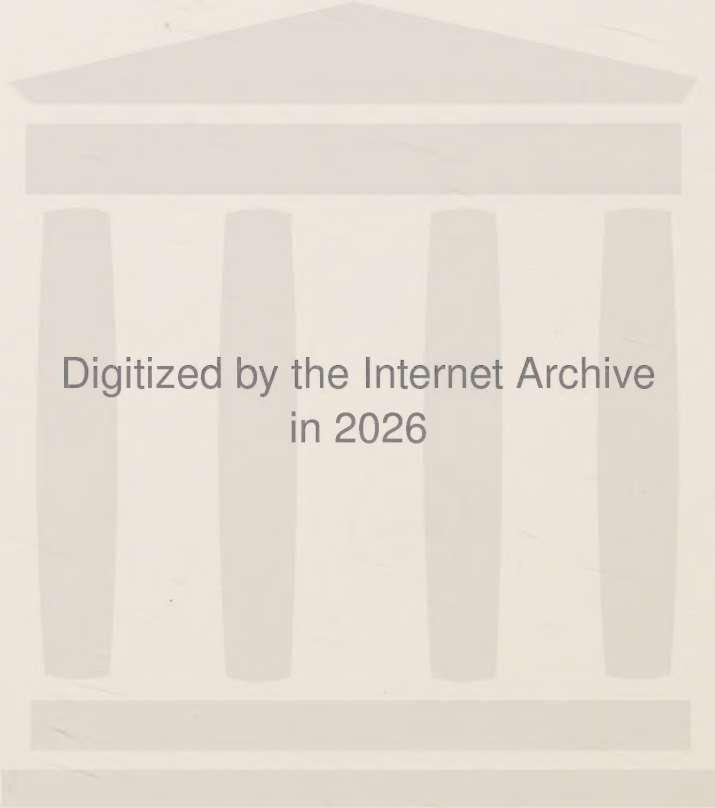
Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Arthur Wischnik
aus
München
1977



Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität
München

Berichterstatter:	Prof. Dr. F. Sebening
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. W. Kliner
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	8. November 1977



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552316_0044

MEINEN ELTERN
IN LIEBE UND DANKBARKEIT
GEWIDMET

I N H A L T

Seite

1. EINLEITUNG	1
2. MATERIAL UND METHODEN	4
<u>2.1. Aufbau und Anwendung eines Apparates</u>	
<u>zur Konservierung von Spenderherzen.....</u>	4
<u>2.2. Versuchstechnik und Bestimmungsmethoden</u>	13
<u>2.2.1. Die Entnahme des Spenderherzens</u>	13
2.2.1.1. Narkose	13
2.2.1.2. Operationstechnik	13
<u>2.2.2. Die Konservierung des Spenderherzens</u>	15
2.2.2.1. Die Beschickung der Konservierungs- einheit	15
2.2.2.2. Messungen	16
<u>2.2.3. Die Wiederbelebung im parabiologischen</u>	
<u>Präparat</u>	18
2.2.3.1. Narkose	18
2.2.3.2. Versuchsaufbau und -durchführung	18
2.2.3.3. Messungen	21
<u>2.2.4. Die orthotope Transplantation der</u>	
<u>konservierten Herzen</u>	22
2.2.4.1. Narkose	22
2.2.4.2. Extrakorporale Zirkulation	22
2.2.4.3. Operationstechnik	23
2.2.4.4. Postoperative Therapie	27
2.2.4.5. Messungen	28
<u>2.3. Einteilung in Versuchsgruppen und</u>	
<u>Auswertungsmethoden</u>	29

3. ERGEBNISSE	33
<u>3.1. Physiologische und biochemische Beobach-</u> <u>tungen bei Konservierung unter standardi-</u> <u>sierten Bedingungen</u>	33
<u>3.1.1. Der Säure-Basen-Haushalt</u>	33
<u>3.1.2. Der Intermediärstoffwechsel</u>	34
<u>3.1.3. Die Elektrolyte</u>	35
<u>3.1.4. Die Enzyme</u>	38
<u>3.1.5. Herzgewicht und Koronarfluß</u>	40
<u>3.2. Ergebnisse bei der Wiederbelebung nach</u> <u>Konservierung unter standardisierten</u> <u>Bedingungen</u>	41
<u>3.2.1. Performancediagramme</u>	41
<u>3.2.2. Compliancediagramme</u>	41
<u>3.3. Ergebnisse bei der Wiederbelebung nach Kon-</u> <u>servierung unter standardisierten Bedingun-</u> <u>gen und zusätzlicher anoxischer Lagerung von</u> <u>einer Stunde</u>	44
<u>3.4. Ergebnisse bei der Konservierung mit unter-</u> <u>schiedlichem pH-Wert im Perfusat und an-</u> <u>schließender Funktionsbeurteilung</u>	48
<u>3.4.1. Ergebnisse aus der Konservierungsphase</u>	48
<u>3.4.2. Ergebnisse aus der Funktionsbeurteilung</u>	52
<u>3.5. Ergebnisse bei der Konservierung mit unter-</u> <u>schiedlichen Perfusionsdrucken</u>	58
<u>3.6. Ergebnisse bei der orthotopen Transplantation</u> <u>von konservierten Herzen</u>	63

4. DISKUSION	70
<u>4.1. Prinzipielle Überlegungen</u>	70
<u>4.1.1. Die Bedarfsreduktion</u>	70
<u>4.1.2. Die Angebotserhöhung</u>	73
<u>4.2. Der derzeitige Stand der Herzkonservierung ...</u>	75
<u>4.2.1. Konservierung durch sanguine Perfusion</u> <u>in Normo- und Hypothermie</u>	75
4.2.1.1. Intrakorporale Konservierung	75
4.2.1.2. Hämoperfusion des isolierten Herzens in Normothermie	77
4.2.1.3. Hämoperfusion des isolierten Herzens in Hypothermie	79
4.2.1.4. Die Herz-Lungen-Präparation	81
4.2.1.5. Die Konservierung mit Hilfe von Zwischenwirten	86
4.2.1.5.1. Die parabiotische Perfusion	86
4.2.1.5.2. Die heterotope Transplantation	87
<u>4.2.2. Konservierung durch Perfusion mit erythro-</u> <u>zytenfreien Medien in Hypothermie</u>	88
<u>4.2.3. Konservierung durch hypotherme Lagerung</u>	97
<u>4.2.4. Konservierung durch Unterkühlung und</u> <u>Gefrieren</u>	100
<u>4.2.5. Konservierung durch hyperbare Oxygenation</u> <u>in Hypothermie</u>	104
<u>4.3. Eigene Experimente</u>	109
<u>4.3.1. Die Konservierung durch hypotherme asanguine</u> <u>Perfusion und ihre Randbedingungen</u>	109
4.3.1.1. Die intermittierende Perfusion	109
4.3.1.2. Der Perfusionsdruck	111
4.3.1.3. Die Zusammensetzung des Perfusats	112
4.3.1.4. Das Perfusatvolumen	117
4.3.1.5. Filterung des Perfusats	117
4.3.1.6. Der pH-Wert des Perfusats	118

<u>4.3.2. Biochemische Befunde während der</u>	
<u>Konservierungsphase</u>	119
4.3.2.1. Der Energiestoffwechsel	119
4.3.2.2. Der Wasser- und Elektrolythaushalt	122
<u>4.3.3. Die Problematik der Beurteilung der</u>	
<u>Funktionstüchtigkeit</u>	126
4.3.3.1. Die retrospektive Beurteilung - para- biotischer Kreislauf und Transplantation.	127
4.3.3.2. Möglichkeiten einer prospektiven Beur- teilung konservierter Herzen	133
5. ZUSAMMENFASSUNG	135
6. LITERATURVERZEICHNIS	138
7. ANHANG ZUR VERSUCHSAUSWERTUNG	175
8. LEBENS LAUF	179

VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN

ATP	Adenosintriphosphat
$AVD_{pO_2} (pCO_2)$	Arteriovenöse Differenz des O_2 - (CO_2 -) Partialdrucks
CPK	Kreatinphosphokinase
CFF (=AoP)	Koronarperfusionsdruck (= Aortendruck)
CVF	Zentralvenöser Druck
dP/dt_{max}	maximale linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit
EKZ	Extrakorporale Zirkulation
HW	Herzgewicht
GLDH	Glutamat-Dehydrogenase
α - HBDH	α - Hydroxybutyratdehydrogenase
LVedP	Linksventrikulärer enddiasto- lischer Druck
LVP	Linksventrikulärer Spitzendruck
$LVP_{(dP/dt_{max})}$	Linksventrikulärer Druck bei Erreichen der maximalen Druck- anstiegsgeschwindigkeit
LVV	Linksventrikuläres Volumen
$pO_2 (pCO_2)$	Sauerstoff- (Kohlendioxid-) Partialdruck
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
s	Standardabweichung
$s\bar{x}$	Mittlerer Fehler des Mittel- werts

1. E I N L E I T U N G

Die Transplantation des Herzens als ultima ratio bei Zuständen chronisch therapieresistenter Herzinsuffizienz ist in ihren operativ-technischen Grundzügen geklärt und wurde schon an mehreren hundert Patienten durchgeführt (u.a. SHUMWAY u. LOWER (130), BARNARD (15, 16), COOLEY (50)). Einer breiten Anwendung stehen im wesentlichen noch folgende Probleme entgegen:

- Die mangelnde Verfügbarkeit von Organspendern, wofür junge, herzgesunde Patienten mit irreparablen Gehirnschäden in Frage kommen, bei denen Infektions- und Geschwulstkrankheiten (mit Ausnahme eines primären Hirntumors) auszuschließen sind. Die Anzahl derartig geeigneter Spender ist begrenzt und wird auf ca. 20 000 pro Jahr geschätzt (200).
- Die immunologische Abstoßung des Transplantats. Ihr wird mit der Immunsuppressivtherapie begegnet, wobei bei intensiver Immunsuppression zwar die Abstoßungsreaktion akut unterbunden werden kann, dafür aber die Gefahr der äußersten Infektlabilität des Patienten gegeben ist. Für den Erfolg der Transplantation kommt daher der Auswahl von Transplantat und Empfänger nach dem Gesichtspunkt der Histokompatibilität eine große Bedeutung zu.

Beide Problemstellungen wären einer Lösung näher gebracht, gelänge es, das Spenderorgan über eine gewisse Zeit hinweg zu konservieren. Damit wäre Zeit gewonnen

- für immunologische Bestimmungen am verfügbar gewordenen Spenderherzen (Histokompatibilitätstest),
- für die Ermittlung eines geeigneten Empfängers, evtl. im Rahmen einer überregionalen Organisation nach dem Modell der EUROTRANSPLANT,
- für den Transport des Spenderorgans zum Empfänger bzw. zum Transplantationsort,
- für die Operationsvorbereitung beim Empfänger.

Es gilt also, ein Verfahren zu entwickeln, mit dem das Spenderherz über eine für die o.g. Maßnahmen hinlängliche Zeit aufbewahrt werden kann, ohne daß es in seiner Integrität und in seiner Fähigkeit beeinträchtigt wird, sofort nach Implantation seine Funktion vollständig oder zumindest nahezu vollständig wiederaufzunehmen.

Diese Forderung ist besonders wichtig im Hinblick auf die spezifische Situation bei der Transplantation von konservierten Herzen im Vergleich zu der konservierter Nieren: Nach der Implantation muß das Spenderherz seine Funktion praktisch sofort voll übernehmen. Die Erholungsphase ist stark limitiert durch den zeitlich begrenzten Einsatz der extrakorporalen Zirkulation. Demgegenüber besteht beim Versagen eines Nierentransplantates die Möglichkeit, den Patienten weiterhin zu dialysieren.

Angesichts dieser kritischen Situation bei der Transplantation erscheint es wünschenswert, anhand von Parametern, die während der Konservierung meßbar sind, eine prognostische Aussage über die Qualität des Spenderherzens zu machen. Eine Beurteilung des Konservierungserfolgs wird sich dagegen letztendlich immer nur anhand der Feststellung vornehmen lassen, ob das Herz nach orthotoper Transplantation die Kreislaufbelastung übernommen hat oder nicht. Indes handelt es sich hierbei um eine duale Entscheidung, die es nicht erlaubt, die Myokardfunktion exakt zu untersuchen und anhand von Vergleichen mit einem Normalkollektiv Aufschluß darüber zu erhalten, inwieweit die Konservierung Funktionseinbußen bewirkt hat. Zur Klärung dieser Fragestellung eignet sich unserer Ansicht nach die Präparation mit dem isolierten, isovolumisch schlagenden Herz, welche die Möglichkeit bietet, linksventrikuläre Funktionsparameter im einzelnen zu untersuchen.

Vor dem Hintergrund dieser Überlegungen lassen sich die Zielvorstellungen der vorliegenden Studie zusammenfassen :

- 1) Die Entwicklung eines Apparates zur Konservierung von Spenderherzen. Die Wahl der Methode fiel unter Berücksichtigung von Ergebnissen anderer Autoren und aus theoretischen Erwägungen auf eine asanguine, intermittierende Perfusion der Koronarien in Hypothermie.
- 2) Die Untersuchung des Erhaltungsstoffwechsels der konservierten Herzen während der Konservierungsphase anhand verschiedener biochemischer Parameter.
- 3) Die Beurteilung des Konservierungserfolgs anhand von Untersuchungen an der isolierten Herzpräparation.
- 4) Die Bestätigung des Konservierungserfolgs mit Hilfe der orthotopen Transplantation.
- 5) Die Optimierung von einzelnen Parametern des Konservierungsverfahrens (pH-Wert des Perfusats, Perfusionsdruck) mit Hilfe von 2) und 3).
- 6) Die Gewinnung von prognostischen Parametern für den Konservierungserfolg.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. AUFBAU UND ANWENDUNG EINES APPARATES ZUR KONSERVIERUNG VON SPENDERHERZEN

Die Konservierungseinheit ist in Abb. 1 schematisch dargestellt

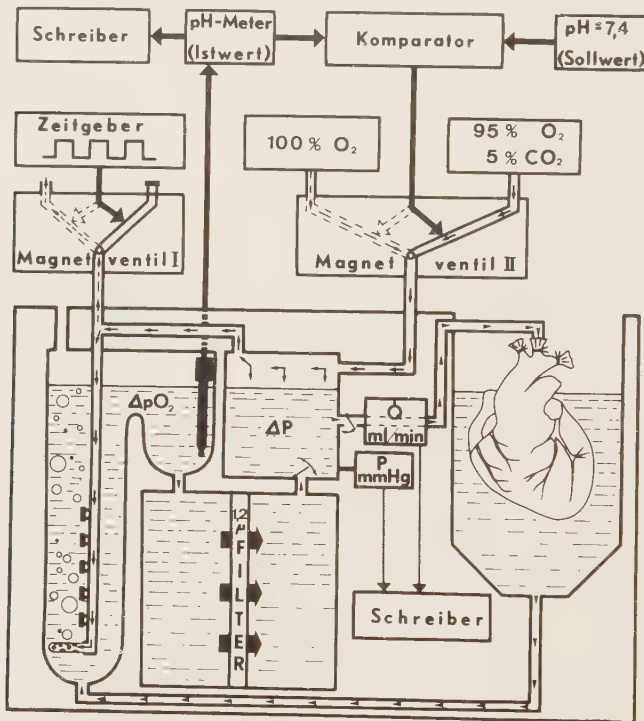


Abb. 1. Schematische Darstellung der Anordnung zur Konservierung von Spenderherzen durch intermittierende Perfusion in Hypothermie

Der Antrieb für die Perfusion der Koronarien erfolgt pneumatisch: Ein Treibgas (reiner Sauerstoff oder ein Sauerstoff/Kohlendioxid - Gemisch) fließt, aus dem Magnet-

ventil II ¹⁾, kontinuierlich (0,6 - 0,8 l/min) in die Druckkammer ΔP . Die Druckkammer kann auf zwei Wegen wieder verlassen werden, je nachdem ob das Magnetventil I ¹⁾, das Rechteckimpulse von einem elektronischen Zeitgeber ²⁾ erhält, geöffnet oder geschlossen ist:

Bei geöffnetem Ventil kann das Treibgas die Perfusionskammer frei verlassen, ohne daß ein Überdruck erzeugt wird (in Abb. 1 durch gestrichelte Linien angedeutet).

Bei geschlossenem Ventil verläßt das Treibgas die Druckkammer über die Oxygenatorkammer Δp_{O_2} . Bevor es jedoch in diese austreten - und gleichzeitig damit das Perfusat aufoxygenieren - kann, muß es einen hydrostatischen Druck überwinden, der durch den Abstand der Austrittsstelle in die Oxygenatorkammer von dem Spiegel des Perfusats gegeben ist.

Zur Vergrößerung der Gas/Perfusat-Austauschfläche erfolgt der Gasaustritt in die Oxygenatorkammer an einer Fritte, in der sich Löcher von etwa 1 mm Durchmesser befinden. Die Fritte kann auch an einer der in Abb. 1 verschlossen dargestellten Öffnungen angebracht werden, wodurch der hydrostatische Druck, gegen welchen das Gas austritt, kleiner wird. Dieser hydrostatische Druck nun überträgt sich auf das Perfusat in der Druckkammer. Über einen Druckaufnehmer ³⁾ kann der erzeugte Druck kontinuierlich auf einem Achtkanalschreiber ⁴⁾ registriert werden (vgl. Abb. 4).

Der erzeugte Druck bewirkt, daß das Perfusat, gelenkt durch zwei passive Ventile am Eingang und am Ausgang der Druckkammer, in die Leitung gedrückt wird, die in die Aortenwurzel des konservierten Herzens führt. Somit ergibt sich eine intermittierende Perfusion der Koronarien,

1) Fa. Danfoss, Nordborg, Dänemark

2) Fa. Jumo, Fulda

3) Statham Laboratories Inc., Oxnard, Cal.

4) Gould-Brush Instrument Systems Division, Cleveland, Ohio

wobei die Zeitspannen für Perfusion und Pause an dem Zeitgeber ²⁾ für das Magnetventil I beliebig einstellbar sind. Bisher wurden als Impulsdauer 5 s und als Pausendauer 8 s benutzt (vgl. Abb. 4).

Der Fluß durch die Koronarien wird in der Zuleitung mit einem eingebauten elektromagnetischen Flußmesser (EMF) ³⁾ kontinuierlich gemessen und ebenfalls auf dem Achtkanal-schreiber registriert (vgl. Abb. 4).

Das venöse Perfusat tritt am Koronarsinus aus. Das Herz schwimmt frei im Perfusat. Das durch die Koronarien geflossene Perfusat gelangt nach dem Prinzip der kommunizierenden Röhren zurück zur Oxygenatorkammer ΔpO_2 , und von dort aus durch einen Membranfilter (Porengröße 1,2 μ) ⁵⁾ wieder in die Druckkammer ΔP .

Die geschilderte und in Abb. 1 schematisch dargestellte Perfusionskammer ist in einem aus drei Teilen bestehenden, verschraubbaren Werkstück aus Plexiglas ⁶⁾ mit den Außenabmessungen 21 x 18 x 28 cm gearbeitet. Eine maßstabsgetreue Darstellung der Perfusionskammer zeigt Abb. 2. Die Perfusionskammer ist mit 1500 ml Perfusat gefüllt. Die Zusammensetzung und das Rezept zur Zubereitung des Perfusats sind in den Tab. 1 und 2 wiedergegeben.

2) Fa. Jumo, Fulda

3) Statham Flo-Probe^R, Blood Flow Transducer

5) Sartorius Membranfilter GmbH, Göttingen

6) Röhm & Haas, Darmstadt

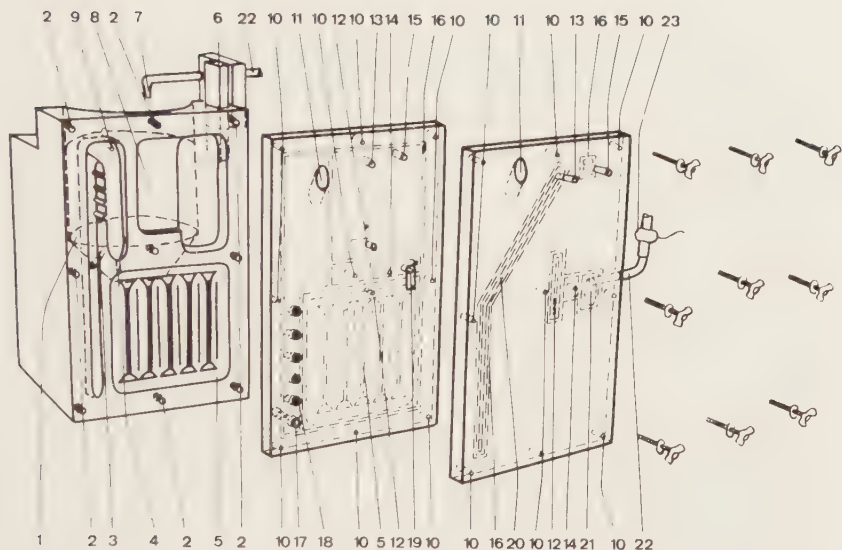


Abb. 2. Perspektivische Darstellung der Perfusionskammer

- | | |
|---|--|
| 1) Gefäß für das Herz | 13) Austrittsöffnung für das Treibgas aus der Druckkammer, Ansatz für die Leitung zum Magnetventil I |
| 2) Gewinde für Flügelschrauben | 14) Bohrung für Druck- und Abnahmekatheter |
| 3) Verbindung zwischen Herzgefäß und Oxygenatorkammer | 15) Eintrittsöffnung für das Treibgas |
| 4) Verbindung zw. Oxygenatorkammer und Filterkammer | 16) Dichtungen |
| 5) Filterkammer | 17) Fritte und |
| 6) Höheneinstellung für den Ansatzstutzen | 18) Verschlußstopfen in der Treibgaszuleitung zur Oxygenatorkammer |
| 7) Ansatzstutzen | 19) Austrittsöffnung für das arterielle Perfusat |
| 8) Druckkammer | 20) Treibgasleitung von der Druck- zur Oxygenatorkammer |
| 9) Austrittsöffnung für das Treibgas aus der Oxygenatorkammer | 21) Flatterraum für das Ventil in der arteriellen Perfusatleitung |
| 10) Bohrungen für Flügelschrauben | 22) Arterielle Zuleitung |
| 11) Bohrung f. pH-Elektrode | 23) Flußmesser |
| 12) Verbindungsleitung zw. Filter- und Druckkammer | |

Tab. 1. Zusammensetzung des verwendeten Perfusats

NaCl	6, 8330	g/l
NaHCO ₃	2, 1000	g/l
NaH ₂ PO ₄ x H ₂ O	0, 1640	g/l
CaCl ₂	0, 1400	g/l
Kalium-D,L-asparaginat	1, 0500	g/l
Magnesium-D,L-asparaginat	1, 0500	g/l
Kupfer-D,L-asparaginat	0, 0105	g/l
Zink-D,L-asparaginat	0, 0063	g/l
Mangan-D,L-asparaginat	0, 0042	g/l
Kobalt-D,L-asparaginat	0, 0042	g/l
Procain-HCl	0, 4000	g/l
Clorpromazin	0, 0150	g/l
Hydrocortison	0, 0400	g/l
Glukose	2, 0000	g/l
Insulin	0, 0012	g/l

Kationen:

Na ⁺	143,287	mMol/l
K ⁺	5,817	mMol/l
Ca ⁺⁺	1,262	mMol/l
Mg ⁺⁺	2,909	mMol/l
Cu ⁺⁺	0,032	mMol/l
Zn ⁺⁺	0,021	mMol/l
Mn ⁺⁺	0,011	mMol/l

Anionen:

Cl ⁻	119,444	mMol/l
HCO ₃ ⁻	25,000	mMol/l
H ₂ PO ₄ ⁻	1,367	mMol/l
D,L-Aspara- ginat	5,880	mMol/l

Errechnete Osmolarität: 354 mosmol/l

Tab. 2. Rezept zur Herstellung des Perfusats

Physiologische NaCl-Lösung ⁷⁾	759, 22 ml
NaHCO ₃ -Lösung, 8,4 % ⁸⁾	25, 00 ml
Inzolen ⁹⁾	21, 00 ml
CaCl ₂ -Stammlösung, 0,28 %	50, 00 ml
NaH ₂ PO ₄ x H ₂ O-Stammlösung, 0,164 %	100, 00 ml
Glukoselösung 50 % ⁷⁾	4, 00 ml
Novocain 2 % ¹⁰⁾	20, 00 ml
Megaphen ¹¹⁾	0, 60 ml
Hydrocortison Höchst (Inf.lsg.) ¹⁰⁾	8, 00 ml
Insulin Höchst ¹⁰⁾ , 24 IE	0, 60 ml
Ampuwa ⁷⁾ (Aqua bidestillata)	11, 58 ml
	1000, 00 ml

Die gesamte Anordnung ist in einer Kühlbox¹²⁾ untergebracht. In dieser befindet sich außerdem ein Widerstandsthermometer¹³⁾, das frei in der Luft hängt. Der temperaturabhängige Widerstand des Thermometers wird in einem Regler¹⁴⁾ mit einem temperaturunabhängigen Widerstand (Sollwert) verglichen. Die daraus gebildete Regelabweichung steuert einen elektronischen Schalter an, der seinerseits das Aggregat der Kühlbox in Betrieb setzt oder ausschaltet. Das Regelverhalten ist aus Abb. 4 ersichtlich. Es wird deutlich, daß die Temperatur in der Kühltischluft um den eingestellten Sollwert von 4°C nur um einen Wert von ca. $\pm 0,25$ °C schwankt, wobei zu berücksichtigen

7) Fresenius, Bad Homburg

8) Delta Pharma, Pfullingen, Württ.

9) Dr. Franz Köhler Chemie, Alsbach/Bergstr.

10) Hoechst AG, Frankfurt/Main

11) Bayer AG, Leverkusen

12) Linde AG, München

13) Yellow Springs Instr. Co. Inc., Yellow Springs, Ohio

14) Fa. Knauer

ist, daß wegen der großen Wärmekapazität von Wasser die Undulation im Perfusat noch wesentlich geringer ist. In die Konservierungseinheit ist ferner ein Regelsystem (Abb. 3) für die Konstanterhaltung des pH-Werts im Perfusat eingebaut:

In der Oxygenatorkammer ΔpO_2 taucht eine bei $4^\circ C$ zweipunkt-geeichte¹⁵⁾ pH-Elektrode (Einstabmeßkette)¹⁶⁾ in das Perfusat ein und erlaubt eine kontinuierliche Messung des pH-Werts im Perfusat (Istwert) mit Hilfe eines digitalen pH-Meters¹⁷⁾. Der Istwert wird in drei Dekaden (für 1,0, 0,1 und 0,01 pH-Einheiten) in einem binären Code mit einem Sollwert verglichen. Hieraus ergibt sich die Regelabweichung, die mehrmals pro Sekunde gebildet wird. Die Einzelergebnisse dieses sequentiellen Vergleichs werden gespeichert und steuern ihrerseits das Magnetventil II an.

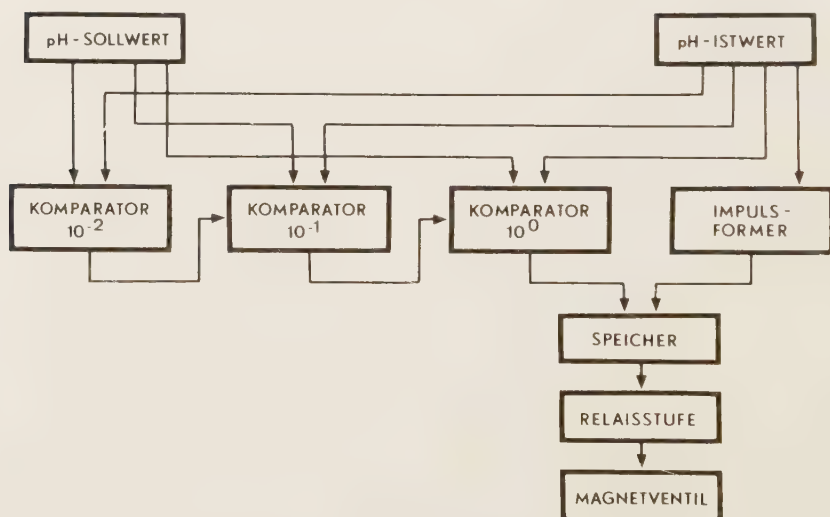


Abb. 3. Blockschaltbild der elektronischen pH-Regelung

15) pH-Standardpufferlösungen nach NBS bzw. DIN 19 266 mit $pH_1 (5^\circ C) = 3,999$ und $pH_2 (5^\circ C) = 7,534$

16) Dr. W. Ingold KG, pH-Meßtechnik, Frankfurt/Main

17) Orion Research Inc., Cambridge, Mass. (Model 701)

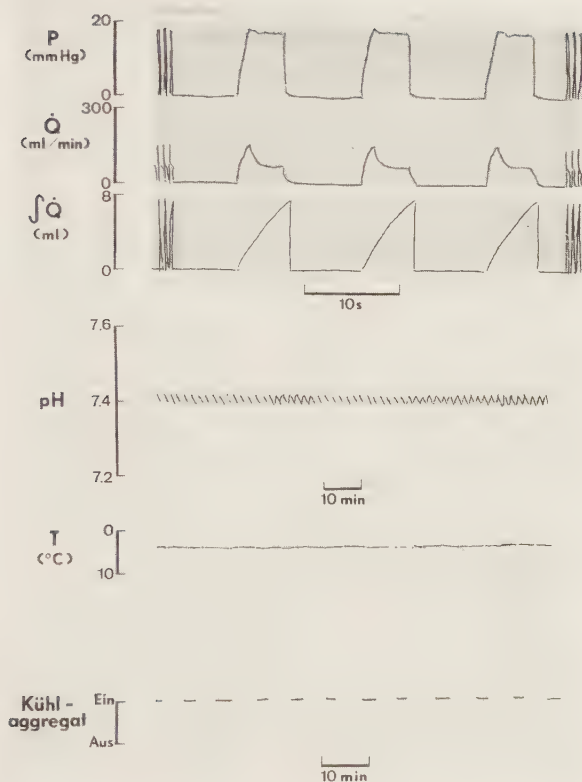


Abb. 4. Originalregistrierungen während der Konservierungsphase (vgl. Text). Das Integral⁴⁾ über den Perfusatfluß ($\int \dot{Q}$) gibt an der Stelle seines Maximalwerts (unmittelbar vor dem Abfall) die Menge Perfusat im ml an, die bei einem Perfusionspuls durch die Koronarien geflossen ist

⁴⁾ Integrator der Fa. Gould-Brush, Cleveland, Ohio

Das Magnetventil II erlaubt alternativ einem von zwei Gasgemischen den Zutritt zur Druckkammer ΔpO_2 (vgl. Abb. 1):

Liegt der pH-Wert im Perfusat unter dem Sollwert, tritt reiner Sauerstoff, liegt er über dem Sollwert, tritt das Sauerstoff/Kohlendioxid-Gemisch ¹²⁾ ein.

Der pH-Wert wird also durch den CO_2 -Gehalt im Natriumbicarbonatpuffer des Perfusats (vgl. Tab. 1, Zusammensetzung) geregelt, und zwar, wie aus der Originalregistrierung ¹⁸⁾ in Abb. 4 ersichtlich ist, mit einer Genauigkeit von $\pm 0,01 - 0,02$ pH-Einheiten.

Die elektronische Regelzeit beträgt maximal 0,5 s und ist somit im Vergleich zu der mechanischen Zeitkonstante zu vernachlässigen (das gesamte Perfusatvolumen wird einmal in ca. 30 Minuten durch die Koronarien gepumpt).

Die gesamte Konservierungseinheit ist fahrbar und hat Außenmaße von 130 x 70 x 55 cm.

12) Linde AG, München

(Für einen pH-Bereich von 7,0 - 7,8 wurde Carbogen^R (95 % O_2 /5 % CO_2), für tiefere Werte bis 6,1 Analysengemische mit einem CO_2 -Anteil bis zu 50 % verwendet)

13) Einkanalschreiber der Fa. Kipp & Zonen, Schönberg/Ts.

2.2. VERSUCHSTECHNIK UND BESTIMMUNGSMETHODEN

2.2.1. Die Entnahme des Spenderherzens

Als Organspender fanden Bastardhunde beiderlei Geschlechts mit einem Körpergewicht zwischen 18 und 23 kg Verwendung.

2.2.1.1. Narkose

Die Narkose wurde eingeleitet mit 25 mg Pentobarbital - Natrium (Nembutal^R)¹⁹⁾ / kg Körpergewicht i.v. und 0,5 mg Atropinsulfat (Atropinum sulfuricum-Amphiolen^R)²⁰⁾.

Die Beatmung erfolgte mit einem Volumen-Zeit-gesteuerten Respirator²¹⁾ mit Sauerstoff und Lachgas im Verhältnis 1:1. Die Atemfrequenz war 20/min, das Atemzeitvolumen betrug ca. 200 ml/kg . min, das Verhältnis Inspirations-/Expirationsdauer 2:1. Bei Eröffnung der Pleura wurde ein positiver endexpiratorischer Druck von 5 cm H₂O eingestellt. Relaxierung erfolgte mit 3 mg Pancuroniumbromid (Pancuronium^R)²²⁾.

2.2.1.2. Operationstechnik

Zunächst wurde die V. femoralis dargestellt und in sie ein Infusionskatheter eingebunden. Sodann erfolgte Thorakotomie im 4. Interkostalraum links. Nach Eröffnung des Perikards erfolgte die Darstellung von Aorta ascendens, Arcus aortae, Truncus brachiocephalicus und A. subclavia sinistra. Um die Aorta wurde nach dem Abgang der A. subclavia sin. eine Ligatur vorgelegt, ebenso um den Truncus brachiocephalicus. Die V. cava superior wurde extraperikardial, die V. cava inferior intraperikardial dargestellt und mit einem Nabelbändchen angeschlungen. Nunmehr erfolgte Gerinnungshemmung mit 500 I.E. Heparin

19) Deutsche Abbott GmbH, Ingelheim am Rhein

20) Cascan GmbH, Wiesbaden

21) Servo-Ventilator 900, Elema-Schönander, Schweden

22) Organon Teknika, München

USP XVIII (Thrombophob ad inj.^{R)}²³⁾ / kg Körpergewicht i.v. Über die A. subclavia sin. wurde dann ein Katheter mit seitenständigen Löchern²⁴⁾ (Charr. 18-20) in die Aortenwurzel eingeführt. Dieser Katheter wurde mit einem Infusionssystem verbunden, das es erlaubt, in situ mit einer Perfusion der Koronarien mit Perfusat zu beginnen, das vorher durch Einleiten von Sauerstoff oxygeniert worden war und Zimmertemperatur hatte, und nach Entnahme des Herzens die Perfusion mit oxygeniertem Perfusat von 5°C fortzusetzen. Die Perfusionsleitung war zunächst jedoch abgeklemmt.

Sodann wurden beide Hohlvenen mit Hilfe der vorher angelegten Nabelbändchen aufgesucht und durchtrennt, so daß der rechte Vorhof offen war und kein venöses Blut aus dem großen Kreislauf zum rechten Herzen zurückkam. Anschließend wurde der linke Vorhof eröffnet, um dem pulmonal-venösen Blut den Austritt zu ermöglichen. Im gleichen Moment wurden die vorher um Aorta und Truncus brachiocephalicus gelegten Ligaturen zugezogen und sofort darauf die Perfusionsleitung freigegeben. Das noch schlagende Herz trieb das aus der Aortenwurzel kommende Perfusat durch die Koronarien und wusch diese so vollständig mit eigener Kraft aus.

Nun wurden Truncus brachiocephalicus und Aorta hinter den Ligaturen durchtrennt, ebenso die Vorhöfe unter Mitnahme eines möglichst großen Anteils der Vorhofmuskulatur.

Das Herz wurde bei laufender Perfusion in eine Schüssel mit zimmerwarmer Ringerlösung verbracht und von anhaftendem Blut befreit. Sodann wurde in ein Bad mit Ringerlösung von 5°C gewechselt und gleichzeitig die Perfusion auf Perfusat von 5°C umgestellt. Spätestens zu diesem Zeitpunkt erfolgte Herzstillstand.

War das Herz für die Funktionstestung im parabiologischen

23) Nordmark-Werke GmbH, Hamburg

24) Fa. Willy Rüschi, Waiblingen/Württ.

Präparat vorgesehen, wurden jetzt die Chordae tendineae im linken Ventrikel durchtrennt, um bei einer etwa vorliegenden Insuffizienz der Aortenklappe eine Überdehnung des linken Ventrikels durch das retrograd einströmende Perfusat zu verhindern. In den Sinus coronarius wurde ein dünner, weicher Katheter eingelegt und durch eine Naht fixiert.

War das Herz für die Transplantation vorgesehen, wurde die Überdehnung des linken Ventrikels durch einen vom Vorhof eingeführten Katheter verhindert. Ferner wurden bereits zu diesem Zeitpunkt A. pulmonalis, Aorta und Vorhöfe für die Transplantation präpariert.

Unter mehrfachem Wechsel der kalten Ringerbäder und bei laufender Perfusion mit kaltem, oxygeniertem Perfusat wurde das Herz nun vollends von außen anhaftendem oder in den Vorhöfen oder Ventrikeln befindlichem Blut befreit. Danach wurde die Perfusionsleitung an dem in der A. subclavia sin. befindlichen Katheter abgeklemmt und vom Infusionssystem getrennt. Das Herz wurde gewogen²⁵⁾ und sofort in die Konservierungseinheit verbracht.

Der gesamte Entnahmevorgang beanspruchte 1,5 - 2 Stunden, die Zeitspanne vom Beginn der asanguinen Perfusion bis zum Einbringen in die Perfusionskammer betrug ca. 10 min.

2.2.2. Die Konservierung des Spenderherzens

2.2.2.1. Die Beschickung der Konservierungseinheit

Die in 2.1. beschriebene Konservierungseinheit wurde bereits 2 Stunden vor dem voraussichtlichen Beginn der Konservierungsphase in Betrieb genommen und das Perfusat rezirkuliert, so daß das Spenderorgan ein homöostatisches Milieu vorfand.

Nach Abschluß der Präparation wurde der Perfusionskatheter an den Ansatzstutzen der Zuleitung konnektiert. Das Sys-

²⁵⁾ Mettler Instrumente AG, Zürich (Modell P 2000)

tem wurde entlüftet und die Perfusion freigegeben. Der mit dem Herzen in die Kammer eingebrachte Koronarsinuskatheter sowie ein aus der Druckkammer kommender Abnahmekatheter wurden aus der Kühlbox herausgeführt, so daß jederzeit Abnahmen von Proben arteriellen und venösen Perfusats möglich waren.

2.2.2.2. Messungen

Neben den kontinuierlich gemessenen Größen (Perfusionsdruck, Perfusatfluß, pH, Temperatur) wurden Perfusatproben für klinisch-chemische Bestimmungen zu folgenden Zeiten gewonnen: 0 h (Leerwert aus dem laufenden Perfusionssystem unmittelbar vor Einbringen des Herzens), sodann 1/2, 1, 1 1/2, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 und 24 h nach Beginn der Konservierungsphase. Nachts wurden die Proben mit Hilfe einer Rollerpumpe²⁶⁾ in einen Fraktionssammler²⁶⁾ gebracht, der sich, ebenso wie das Perfusionssystem, in einer auf 4°C geregelten Kühlbox¹²⁾ befand.

In den so gewonnenen Proben war allerdings eine Bestimmung von pO_2 und pCO_2 (s.u.) nicht möglich. Für diese Parameter liegen also nur Werte für folgende Abnahmezeiten vor: 0, 1/2, 1, 1 1/2, 2, 3, 4, 5, 6, 8 und 24 h.

26) LKB-Produkte A B, Bromma, Schweden
Pumpe: Varioperpex Peristaltic Pump 12 000
Fraktionssammler: LKB 17 000 Minirac

12) Linde AG, München

Im arteriellen und venösen Perfusat wurden bestimmt:

pO_2 ²⁷⁾ CLARK-Elektrode
 pCO_2 ²⁷⁾ SEVERINGHAUS-Elektrode

Nur im arteriellen Perfusat wurden bestimmt:

Natrium²⁸⁾ Flammenphotometrische Bestimmung
Kalium²⁸⁾ Flammenphotometrische Bestimmung
Chlorid²⁷⁾ Coulometrische Titration

anorganisches

Phosphat²⁹⁾ Molybdänblau-Reaktion nach FISKE und
SUBBAROW

Laktat ²⁹⁾	}	Bestimmung mit optisch-enzymatischen Methoden (27)
Glukose ²⁹⁾		
GOT ²⁹⁾		
GLDH ²⁹⁾		
CPK ²⁹⁾		
α -HBDH ²⁹⁾		

27) Corning Scientific Instr., Medfield, Mass.
Gasanalyse: Corning 165
Chloridmessung: Chloride Meter Model 920

28) Eppendorf Gerätebau, Netheler + Hinz GmbH, Hamburg

29) Boehringer, Mannheim, Biochemica Test-Combination

2.2.3. Die Wiederbelebung im parabiotischen Präparat

Als Blutspender für die Perfusion der Koronarien des isoliert schlagenden Herzens wurden Bastardhunde beiderlei Geschlechts mit einem Körpergewicht von 35 - 40 kg verwendet.

2.2.3.1. Narkose

Die Narkose wurde eingeleitet wie in 2.2.1.1. beschrieben. Während des Versuchs atmeten die Tiere spontan über einen Endotrachealtubus Sauerstoff und Lachgas im Verhältnis 1:1.

2.2.3.2. Versuchsaufbau und -durchführung

In beiden Leistenregionen wurden A. und V. femoralis dargestellt. In die V. femoralis dextra wurde ein Infusionskatheter eingebunden, in die A. femoralis sinistra ein harter PVC-Katheter als Verbindung zum Druckaufnehmer.

Nach Antikoagulation mit 500 I.E. Heparin USP XVIII (Thrombophob ad inj.^R 23) / kg Körpergewicht als Initialdosis wurden Katheter mit seitenständigen Löchern in die A. femoralis dextra (Charr. 18-22) und in die V. femoralis sinistra (Charr. 22-24) eingebunden.

Vom arteriellen Katheter führte ein Silikonschlauch über eine Rollerpumpe zu einem mit 1000 ml Ringer-Lösung und 500 ml Macrodex^R 30) gefüllten Gefäß, dessen Inhalt auf einer Temperatur von 37°C gehalten wurde. Vom Boden dieses Gefäßes führte ein Silikonschlauch zu einem Reservoir, das sich in den Katheter in der V. femoralis sinistra entleerte (vgl. Abb. 5).

Nach Ablauf der 24-stündigen Konservierungsdauer wurde das Herz der Konservierungseinheit entnommen, gewogen 31) und in eine Schüssel mit Ringer-Lösung von Zimmertemperatur verbracht. Der Katheter in der A. subclavia sinistra

23) Nordmark Werke GmbH, Hamburg

30) Knoll AG, Ludwigshafen

31) Waage der Mettler Instr. AG, Zürich, Modell P 2000

des konservierten Herzens wurde wieder mit dem in 2.2.1.2. beschriebenen Infusionssystem verbunden, das oxygeniertes Perfusat von Zimmertemperatur enthielt. Das System wurde entlüftet und die Perfusion begonnen.

Bei laufender Perfusion wurde eine Tabaksbeutelnaht in den vor Beginn der Konservierung von ihren Chordae tendineae getrennten Mitralsegeln (vgl. 2.2.1.2.) vorgelegt. In den linken Ventrikel wurde nun ein Ballonkatheter eingeführt. Dabei handelte es sich um einen weichen Gummiballon, der selbst bei maximaler Füllung (45 ml) durch seine Eigenretraktionskraft keinen Druck auf den angeschlossenen Druckaufnehmer ausübte. Der Ballon war auf eine durchbohrte und in der Bohrung mit einem Metallansatz versehene Teflonscheibe ($\varnothing$ 10 mm) aufgebunden. Auf diesem Metallansatz saß ein harter PVC-Katheter, der die Verbindung zum Druckaufnehmer bzw. alternativ zu einer graduierten Spritze herstellte. Das System Ballonkatheter/Spritze wurde mit genau 50 ml abgekochten, destillierten Wassers gefüllt.

Die Tabaksbeutelnaht in der Mitralklappe wurde über der Ansatzscheibe des Ballons zugezogen. Ein Mitralsegel wurde außerhalb der Naht inzidiert, um thebesischem und über die Aortenklappe in den linken Ventrikel gelangtem Blut den Abfluß zu ermöglichen.

Nach Beendigung dieser Präparation wurde das Herz von der Infusionsleitung abgenommen und der Katheter in der A. subclavia sin. mit der arteriellen Zuleitung vom Blutspender verbunden. Durch Inbetriebnahme der Rollerpumpe wurde die Reperfusion begonnen. Der Zeitraum, der zwischen der Entnahme aus der Konservierungseinheit und dem Beginn der Reperfusion verstrich, betrug jeweils ca. 15 Minuten. In drei Versuchen wurde die Präparation ohne gleichzeitig laufende Perfusion (mithin in Anoxie) vorgenommen und anschließend das Herz noch anoxisch gelagert, bis zwischen Ende der Konservierungsphase und Reperfusionbeginn 60 Minuten verstrichen waren (Kontrollversuche

zur Simulation der Operationsdauer bei der Transplantation). Nach Beginn der Reperfusion wurde die Umdrehungszahl der Rollerpumpe langsam gesteigert, bis innerhalb von 10 Minuten ein koronararterieller Perfusionsdruck von 100 mm Hg erreicht war. Dieser Druck wurde während des gesamten Versuchs entweder durch manuelle Einstellung der Umdrehungszahl an der Rollerpumpe ³²⁾ oder mit Hilfe einer elektronischen Drucksteuerung ³³⁾ aufrechterhalten. Bald nach Beginn der Reperfusion begannen die Herzen spontan zu schlagen. Initiale Herzrhythmusstörungen (Kammerflimmern oder -flattern, Extrasystolen) konnten durch Defibrillation behoben werden.

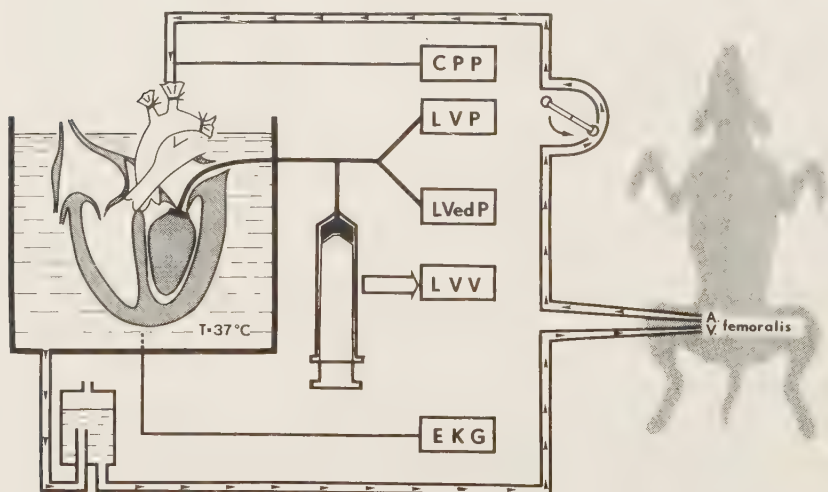


Abb. 5. Schematische Darstellung des parabiotischen Kreislaufs zur Funktionsbeurteilung konservierter Herzen

³²⁾ Fa. E.G. Weishaar, München

³³⁾ Fa. Stöckert, München

2.2.3.3. Messungen

Arterieller Druck und EKG des Wirtes wurden zur Kontrolle seines Kreislaufs auf einem Monitor verfolgt. Kontinuierlich gemessen und auf einem Achtkanalschreiber⁴⁾ registriert wurden:

- Koronararterieller Perfusionsdruck (CPP) als Druck in der Aortenwurzel (AoP) mit einem Druckaufnehmer³⁾ über ein Y-Stück an der arteriellen Zuleitung.
- Linksventrikulärer Druck als Druck, der vom linken Ventrikel auf den Ballon ausgeübt und durch den angeschlossenen Katheter auf einen Druckaufnehmer³⁾ übertragen wurde. Das Signal der Druckmeßbrücke³⁴⁾ wurde auf zwei Schreiberkanäle übertragen: Im Bereich von 0-200 (400) mm Hg, so daß der linksventrikuläre Spitzendruck (LVP) registriert wurde und im Bereich von -20 (-40) - 20 (40) mm Hg zur Registrierung des enddiastolischen Drucks im linken Ventrikel (LVedP).

Mit Hilfe eines Differenziervverstärkers⁴⁾ konnte kontinuierlich die erste Ableitung des linksventrikulären Drucks nach der Zeit (dp/dt) gebildet werden.

- Elektrokardiogramm. Das EKG wurde von Elektroden in der Wand des Perfusionsgefäßes abgeleitet und verstärkt⁴⁾.

Das linksventrikuläre Volumen (LVV) im Ballon wurde manuell mit einer Spritze in Schritten von 2,5 - 5 ml verändert. Um Aussagen über die Funktion des konservierten Herzens anhand von Druck-Volumen-Beziehungen machen zu können, wurde ca. 10 min nach Beginn der Reperfusion (0-Stunden-Kurven) und 4 h später (4-Stunden-Kurven) das linksventrikuläre Volumen in Schritten von 2,5 ml erhöht, bis ein LVedP von 40 mm Hg erreicht war oder sich durch weitere Füllung kein Anstieg des LVP (bei konstantem CPP) mehr erzielen ließ.

Nach Versuchsende wurde das Herz gewogen und sezziert.

⁴⁾ Gould-Brush Instr. Systems Div., Cleveland, Ohio

³⁾ Statham Laboratories, Inc.

³⁴⁾ Fa. Siemens Medizintechnik, Erlangen

2.2.4. Die orthotope Transplantation der konservierten Herzen

Die Empfänger der konservierten Herzen waren Bastardhunde beiderlei Geschlechts, die entsprechend dem Körpergewicht der Spenderhunde ausgesucht wurden.

2.2.4.1. Narkose

Zusätzlich zu der in 2.2.1.1. beschriebenen Narkoseeinleitung erhielten die Empfänger 30 mg Piritramid (als Hydrogentartrat und Bis-Hydrogentartrat in Dipidolor^{R 35)}) i.m.. Im weiteren Verlauf der Operation wurden 20 - 30 mg Piritramid/h als Dauerinfusion und je 5 mg Droperidol (Dehydrobenzberidol^{R 35)}) in repetitiven Dosen gegeben. Die Beatmung erfolgte wie in 2.2.1.1. beschrieben. Während der Bypass-Phase in Hypothermie bei 32-33°C (Ösophagustemperatur) wurde die Lunge mit reinem Sauerstoff und einem endexpiratorischen Druck von 10 cm H₂O statisch gebläht gehalten. Die Oxygenierung des Bluts in der Herz-Lungen-Maschine³⁶⁾ erfolgte mit einem Gemisch von 95 % O₂ und 5 % CO₂.

2.2.4.2. Extrakorporale Zirkulation

Die Herz-Lungen-Maschine³⁶⁾ war mit einem Schaum-Oxygenator³⁷⁾ versehen. Die Drainage des venösen Bluts erfolgte über die V. iugularis externa und die V. femoralis unter Verwendung von Kathetern mit seitenständigen Löchern²⁴⁾ (Charr. 20 - 24). Der arterielle Rückfluß erfolgte über Metallkanülen³²⁾ mit 4 - 5 mm Durchmesser in der A. femoralis.

Die Füllung der Herz-Lungen-Maschine bestand aus 1500 - 1800 ml Blut von einem heparinisierten (500 I.E. USP XVIII

35) Janssen GmbH, Düsseldorf

36) Polystan Surgical Products, Kopenhagen

37) Temptrol Q 110, Bentley Laboratories, Irvine, Cal.

24) Fa. Willy Rüschi, Waiblingen, Württ.

32) Fa. E.G. Weishaar, München

(Thrombophob ad inj.^{R 23)})/kg Körpergewicht) und arteriell entbluteten Hund, 100 ml Mannit (Mannit 20 % "salvia"^{R 29)}) und 100 ml Inzolen^{R 9)}.

Der Perfusionsfluß bewegte sich zwischen 50 und 110 ml/min, wobei ein arterieller Druck von 80-120 mm Hg aufrechterhalten wurde.

2.2.4.3. Operationstechnik (43)

Zunächst wurden in beiden Leistenregionen A. und V. femoralis dargestellt. Auf einer Seite wurden sie für die spätere Kanülierung für die EKZ präpariert (Ligatur nach distal, Anlegen von Tourniquets nach proximal), auf der anderen Seite wurde in die V. femoralis ein Katheter für die Infusionstherapie und in die Arterie ein harter PVC-Schlauch als Verbindung zu einem Druckaufnehmer eingebunden. Sodann wurden am Hals die V. iugularis externa und die A. carotis communis dargestellt. Die V. iugularis wurde für die nachfolgende Kanülierung für die EKZ vorbereitet, in die A. carotis wurde ein Katheterspitzenmanometer eingebunden, das nach erfolgter Transplantation für die Messung des linksventrikulären Drucks vorgesehen war. Die V. iugularis der anderen Seite wurde mit einem Druckkatheter zur Messung des venösen Drucks versehen. Nunmehr erfolgte linkslaterale Thorakotomie im 4. Interkostalraum. Die Hohlvenen wurden extraperikardial aufgesucht und mit einem Tourniquet versehen. Die V. azygos wurde ligiert. Sodann wurde das Perikard eröffnet und die Ränder an die Begrenzung des Operationsfeldes hochgenäht, so daß das Herz des Empfängers herausgehoben wurde. Das periaortale Fett wurde entfernt und Aorta und A. pulmonalis voneinander getrennt. Nunmehr wurde heparinisiert²³⁾, an den vorbereiteten

23) Nordmark Werke, Hamburg

29) Boehringer, Mannheim

9) Dr. Franz Köhler Chemie, Alsbach/Bergstr.

Stellen (V. iugularis ext., A., V. femoralis) kanüliert und mit der EKZ begonnen bei gleichzeitiger Ligierung der Hohlvenen durch die vorgelegten Tourniquets.

Bei voll laufender EKZ wurden Klemmen auf die Aorta und die A. pulmonalis gesetzt und das Herz des Empfängers entfernt. Die Exzision wurde am kaudalen Ende des Septum interatriale begonnen und nach kranial in der freien Wand des linken Vorhofs unter Mitnahme des Herzohrs fortgesetzt. Die Wand des rechten Vorhofs wurde in ähnlicher Weise durchtrennt. Sodann wurde das Septum interatriale unter Zurücklassung eines möglichst großen Anteils durchschnitten.

Nun erfolgte die Implantation des konservierten Herzens, das mittlerweile der Konservierungseinheit entnommen und gewogen worden war. Da die Präparation der Vorhöfe, der Aorta und der A. pulmonalis bereits nach der Entnahme erfolgt war (vgl. 2.2.1.) brauchte vor der Implantation nur noch der Aortenbogen mit Truncus brachiocephalicus und A. subclavia sinistra durch einen Scherenschlag distal der Klappe abgesetzt zu werden.

Alsdann wurden Ecknähte gelegt, die die oberen bzw. unteren Enden der Septa interatrialia von Spender und Empfänger verbanden. Unter ständiger leichter Spannung dieser Ecknähte wurde das Spenderherz in die Perikardhöhle des Empfängers eingebracht, die Ecknähte über Teflonpolstern geknotet. Der nächste Schritt bestand in der Vernähung des Septum interatriale mit einer fortlaufend überwindlichen Naht zwischen den Ecknähten von kranial. Sodann wurde die Wand des rechten Vorhofs von kranial und kaudal her fortlaufend überwindlich vernäht. Vor dem vollständigen Verschluß des Vorhofs wurde in diesen ein Druckentlastungskatheter (Vent)²⁴⁾ eingelegt.

Nach der Vernähung des rechten Vorhofs wurde das Herz, das bisher hochgehalten worden war, in die Perikardhöhle zu-

24) Fa. Willy Rüschi, Waiblingen, Württ.

rückgelegt und in eine geeignete Position für die Naht des linken Vorhofs gebracht, die von kaudal ebenfalls fortlaufend überwendlich erfolgte. Über das linke Herzohr wurde ein Katheter zur Dekompression des linken Ventrikels vorgeschoben.

Für die folgende Aortennaht wurde auch an die Aorta des Spenderherzens eine Klemme gesetzt, um eine regelrechte Positionierung der beiden Gefäßenden zu ermöglichen.

Zunächst wurde eine evertierende Matratzennaht gelegt, die ihren Ausgang an der Rückseite der Aorta nahm. Über die evertierten Ränder wurde, ebenfalls von dorsal nach ventral, eine überwendliche Naht gelegt.

Die Vernähung der beiden Enden der A. pulmonalis erfolgte analog. Nach Beendigung der Pulmonalisnaht und Entlüftung der Herzhöhlen wurden Aorten- und Pulmonalisklemme geöffnet. In den geglückten Experimenten nahm das Herz hierauf spontan oder nach Defibrillation einen koordinierten Schlagrhythmus auf.

Die Vents wurden aus dem rechten Vorhof, sodann aus dem linken Ventrikel herausgenommen und die Vorhöfe vollständig verschlossen.

Durch Öffnung beider Hohlvenen wurde partieller Bypass eingeleitet, nach Erreichen der Normaltemperatur wurde die EKZ beendet.

In den letzten Transplantationsexperimenten wurde die Reperfusionstechnik wie folgt modifiziert: In die A. carotis communis sinistra wurde ein Katheter (Charr. 14-16) bis zum Truncus brachiocephalicus vorgeschoben. Dieser Katheter war über eine Rollerpumpe³³⁾ mit dem arteriellen Reservoir der Herz-Lungen-Maschine verbunden. Der durch die Rollerpumpe erzeugte Druck konnte durch Einstellung der Pumpe beliebig variiert und durch eine druckgesteuerte Rückkopplung selbsttätig gehalten werden.

Nach erfolgter Vernähung der A. pulmonalis wurde bei die-

³³⁾ Fa. Stöckert, München

ser Variation die Aortenklamme zwischen die Abgänge von Tr. brachiocephalicus und A. subclavia sin. gesetzt. Nunmehr wurde mit Hilfe der druckgesteuerten Rollerpumpe vom arteriellen Reservoir der Herz-Lungen-Maschine Blut über die Aortenwurzel in die Koronarien gepumpt. Koronarvenöses Blut konnte über den rechtsatrialen Vent abfließen, Blut, das durch die Aortenklappe in den linken Ventrikel gelangt war, wurde über den linksventrikulären Vent abgesaugt. Der Perfusionsdruck wurde von 20 mm Hg ausgehend in Schritten von 5-10 mm Hg innerhalb von 10-15 Minuten auf den Wert des arteriellen Systemdrucks gesteigert. Das Herz defibrillierte unter dem Einfluß der Reperfusion spontan. Nach Erreichen des Systemdrucks wurde die Koronarperfusion mit diesem System eingestellt und die Implantation in der oben beschriebenen Weise (Entfernung der Vents, Verschluß der Vorhöfe) zu Ende geführt.

Nach Übernahme der Kreislauflast durch das transplantierte Herz standen Maßnahmen zur Blutstillung im Vordergrund. Operative Blutstillung war vor allem an den Vorhofnähten erforderlich, wo häufig wegen der sehr geringen Wanddicke der Vorhöfe Blutungen aus den Stichkanälen auftraten. Die betroffenen Stellen wurden durch nochmalige Vernähung über Teflonstreifen gesichert. Zur lokalen Blutstillung wurde außerdem Tabotamp^{R 38)} (resorbierbares Hämostyptikum) appliziert.

Zur Heparinneutralisation wurde Protamin (Protaminsulfat Novo^{R 39)}) verabreicht. Unter Berücksichtigung der durch die EKZ bedingten Thrombozytopenie wurde Tachostyptan^{R 40)} (Substitution des Plättchenfaktors 3) gegeben.

Nach zufriedenstellender Blutstillung wurde ein Drain in die Perikardhöhle eingelegt und das Operationsgebiet schichtweise verschlossen.

38) Johnson & Johnson, Norderstedt

39) Novo-Industrie GmbH Pharmazeutika, Mainz

40) Hormon-Chemie, München

2.2.4.4. Postoperative Therapie

a) Volumenbilanzierung

Der EKZ-bedingten Überwässerung des Empfängerorganismus wurde durch Gabe von Diuretika (Lasix^{R 10)}) begegnet. Zum Volumenersatz wurde frisches Zitrat-Blut (versetzt mit ACD-Stabilisator⁴¹⁾) verwendet. Die Volumenzufuhr erfolgte unter Beachtung des zentralen Venendrucks, der auf einem Wert von 8 mm Hg gehalten wurde. Die Zufuhr von Frischblut bei gleichzeitig erfolgreicher Entwässerung ermöglichte eine Normalisierung des Hämatokritwerts und damit eine Verbesserung der O₂-Versorgung des Empfängerorganismus.

b) Bilanzierung des Säure-Basen- und des Elektrolythaushalts durch Infusion von Natriumbikarbonat (Natriumhydrogencarbonat 8,40 %⁸⁾) und Kalium-Magnesium-Aspartat (Inzolen^{R 9)}), entsprechend den Ergebnissen der viertel- bis halbstündlich durchgeführten Blutgasanalysen und Serumkaliumbestimmungen.

c) Gabe von positiv inotropen Substanzen: Adrenalin (Suprarenin^{R 10)}), Isoproterenol (Aludrin^{R 42)}) und Kalzium (Calcium-Sandoz 20 %^{R 43)}).

d) Weitere Maßnahmen zur Normalisierung der Gerinnung: Mit dem Frischblut wurden gleichzeitig gerinnungsaktive Substanzen und insbes. Thrombozyten zugeführt. Die Gerinnungshemmung durch Zitrat wurde durch die Kalziumgabe (vgl.c)) aufgehoben. Dazu wurden noch antifibrinolytische Substanzen (Trasylol^{R 11)}) verabreicht.

10) Farbwerke Hoechst AG, Frankfurt/Main

41) ASID-Institut GmbH, München

8) Delta Pharma, Pfullingen, Württ.

9) Dr. Franz Köhler Chemie, Alsbach/Bergstr.

42) Boehringer Ingelheim

43) Sandoz AG, Nürnberg

11) Bayer AG, Leverkusen

2.2.4.5. Messungen

Am transplantierten Herzen wurden fortlaufend gemessen und auf einem Achtkanalschreiber⁴⁾ registriert:

LVP Katheterspitzenmanometer⁴⁴⁾
LVedP "
CVP Druckaufnehmer
CPP "
EKG EKG-Verstärker⁴⁾

Ferner wurde das Kontraktilitätsverhalten des Herzens anhand von Messungen phasischer Längenveränderungen an einem Muskelsegment des linken Ventrikels mit Hilfe eines neu entwickelten Ultraschall - Laufzeitverfahrens untersucht (HAGL, HEIMISCH, MEISNER, FRANKLIN et al., 1975 (83, 84)).

Zur Überwachung des Empfängertiers wurden in bestimmten Abständen Blutgase²⁷⁾, Hämatokritwert, Serumkalium²⁸⁾ u.a. bestimmt.

-
- 4) Gould Brush Instrument Systems Div., Cleveland, Ohio
44) Mikro-Tip^R Pressure Transducer, Millar Instruments, Houston, Texas
27) Corning 165, Corning Scientific Instruments, Medfield, Mass.
28) Flammenphotometer der Eppendorf Gerätebau, Netheler + Hinz GmbH, Hamburg

2.3. EINTEILUNG IN VERSUCHSGRUPPEN UND AUSWERTUNGSMETHODEN

Insgesamt wurden 50 Versuche durchgeführt. Hiervon dienten 5 der technischen Erprobung der Konservierungseinheit in ihren verschiedenen Entwicklungsphasen sowie der Standardisierung des Meßprogramms während der Konservierungsphase und der Funktionsbeurteilung im parabiologischen Kreislauf. Das eigentliche Versuchsgut, das 45 Experimente mit jeweils 24-stündiger Konservierung umfaßt, ist in Tab.3 dargestellt.

Tab. 3. Übersicht über das Versuchsgut

KONSERVIERUNG		FUNKTIONSBEURTEILUNG			
n	pH	P _{Perf} (cm H ₂ O)	Isoliertes Herz mit ohne vorangegangene An- oxie von 1h	Transplan- tation	nicht erfolgt
11	7,4	20			
3					
5					
7	7,2	20			
11	6,1	20			
	6,4				
	6,6				
	6,8				
	6,9				
	7,0				
	7,1				
	7,2				
	7,4				
	7,6				
	7,8				
8	7,4	5			
		10			
		15			
		20			
		25			
		30			
		35			
		40			

Aus dem in Tab. 3 aufgeschlüsselten Versuchsgut wurden folgende Gruppen für die Auswertung gebildet:

- Gruppe I : Konservierung unter identischen Randbedingungen ($\text{pH}=7,4$ / $P_{\text{Perf}}=20 \text{ cm H}_2\text{O}$)
($n = 19$)
- Gruppe II : Funktionsbeurteilung von Herzen der Gruppe I, die unmittelbar nach Konservierungsende im parabiologischen Präparat wiederbelebt wurden.
($n = 11$)
- Gruppe III : Funktionsbeurteilung von Herzen der Gruppe I, die nach Konservierungsende eine Stunde anoxisch gelagert und dann wiederbelebt wurden.
($n = 3$)
- Gruppe IV : Konservierung bei Variation des Perfusat-pH-Wertes und Funktionsbeurteilung im parabiologischen Präparat ($P_{\text{Perf}}=\text{const} = 20 \text{ cm H}_2\text{O}$)
($n = 12$)
- Gruppe V : Konservierung bei Variation des Perfusionsdrucks ($\text{pH} = \text{const} = 7,4$)
($n = 8$)
- Gruppe VI : Ergebnisse der orthotopen Transplantation von konservierten Herzen ($\text{pH} = 7,2 - 7,4$).
($n = 12$)

Die Ergebnisse aus den einzelnen Gruppen wurden ausgewertet und dargestellt wie folgt ⁴⁵⁾ ⁴⁶⁾:

Gruppe I: Aus $n (= 19)$ jeweils zu einer Abnahmezeit (vgl. 2.2.2.2.) gehörenden Werten x wurden Mittelwert $\bar{x}$ und mittlerer Fehler des Mittelwerts $s\bar{x}$ gebildet und als

Bei der Auswertung wurden verwendet:

- 45) ein programmierbarer Tischrechner der Fa. Hewlett.-Packard (Typ 9830 A) sowie der zugehörige XY-Plotter (Typ 9862 A) für die Gruppen I, II, III und VI.
- 46) Das Rechnersystem TR 440 des Leibniz-Rechenzentrums der Bayer. Akademie der Wissenschaften für die Gruppen IV und V. Zu der Zentraleinheit TR 440 gehören zwei Satellitenrechner TR 86 sowie Lochkartenleser auf der Eingabe- und Schnelldrucker und Benson-Trommelplotter auf der Ausgabenseite.

Funktion der Zeit aufgetragen.

$$(\ s\bar{x} = \sqrt{\frac{(\bar{x} - x)^2}{n(n-1)}})$$

Gruppe II: Die Funktionsbeurteilung erfolgte anhand folgender Beziehungen:

LVP = f(LVedP) (Performancediagramm (vgl. 3.2.1.))
LVedP = f(LVV/HW) (Compliancediagramm (vgl. 3.2.2.))

Um Performancekurven (Compliancekurven), die in verschiedenen Versuchen unter gleichen Bedingungen gewonnen worden waren, zusammenfassen und mit Funktionskurven, die unter anderen Bedingungen erstellt worden waren, vergleichen zu können, wurde folgendes Vorgehen gewählt:

- a) Eingabe der ungeordneten Wertepaare LVedP-LVP (LVV/HW - LVedP) in den Rechner.
- b) Ordnung der Wertepaare nach ansteigendem LVedP (LVV/HW).
- c) Zusammenfassung von LVedP- (LVV/HW-) Werten eines definierten Intervalls von jeweils 1 mm Hg (1 ml/ 100 g) und der zugehörigen LVP- (LVedP-) Werte zu Wertepaargruppen.
- d) Berechnung von Mittelwerten und mittleren Fehlern der Mittelwerte aus den LVedP- (LVV/HW-) und LVP- (LVedP-) Werten jeder Wertepaargruppe.
- e) Graphische Auftragung von $\bar{x}$ und $s\bar{x}$.
- f) Einzeichnung der Umhüllenden sämtlicher eingetragener $s\bar{x}$ -Bereiche.

Gruppe III: Wiederum wurde von den o.g. (Gruppe II) Beziehungen ausgegangen. Da ein Pooling wie in Gruppe II bei nur drei Versuchen statistisch nicht zulässig ist, wurden die Einzelwertpaare in Form eines Scatterdiagramms aufgetragen. Um eine bessere Vergleichbarkeit zu erzielen, wurde aus den Werten aller drei Versuche jeweils eine quadratische Regression errechnet und eingezeichnet.

Gruppe IV: Bei der Auswertung der Versuche zur Optimierung des pH-Werts wurden folgende Größen zueinander in Beziehung gesetzt:

Konservierungsphase: C (Klin.-chem. Parameter) = f (t, pH)

Funktionsanalyse : LVP = f (LVedP, pH)

LVedP = f (LVV/HW, pH)

Einzelheiten zur Erstellung der somit notwendig gewordenen dreidimensionalen Darstellungen finden sich in 7., Anhang zur Versuchsauswertung.

Gruppe V: Die Auswertung der Versuche zur Optimierung des Perfusionsdrucks erfolgte vollkommen analog zu der der Versuche zur Optimierung des pH-Werts, wobei die x-Achse der dreidimensionalen Darstellung statt mit dem pH-Wert mit dem Perfusionsdruck belegt wurde.

Gruppe VI: Zur Auswertung der Transplantationsversuche wurde ein Hewlett-Packard-Programm verwendet, das den F-Test für den Vergleich zweier Wertepaargruppen (hier Gruppe erfolgreicher und Gruppe erfolgloser Transplantationen) ermöglichte.

3. E R G E B N I S S E

3.1. PHYSIOLOGISCHE UND BIOCHEMISCHE BEOBACHTUNGEN BEI KONSERVIERUNG UNTER STANDARDISIERTEN BEDINGUNGEN

Gruppe I (vgl. 2.3.)

3.1.1. Der Säure-Basen-Haushalt

Der pH-Wert im Perfusat ist auf $7,4 \pm 0,01-0,02$ (vgl. Abb. 4) konstant gehalten. Das Verhalten von pO_2 und pCO_2 während der Konservierungsphase ist in Abb. 6 dargestellt.

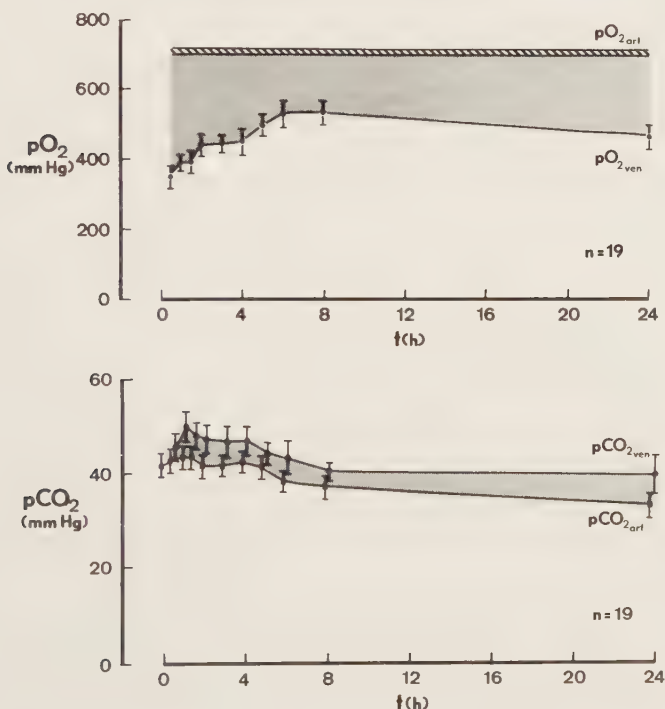


Abb. 6. pO_2 - und pCO_2 -Werte im Perfusat während der Konservierungsperiode

Für den arteriellen Sauerstoffpartialdruck kann Gleichheit mit dem Atmosphärendruck angenommen werden, da bei der gegebenen Versuchsanordnung eine vollständige Äquilibration erfolgt. Bei somit konstantem arteriellem pO_2 finden wir den venösen O_2 -Partialdruck 1/2 Stunde nach Konservierungsbeginn mit 348,8 mm Hg am niedrigsten, jedoch dann bis zur 6. Stunde auf 530 mm Hg ansteigend, um für den Rest der Konservierungsperiode eine nur ganz leicht fallende Tendenz aufzuweisen. Entsprechend ist der Sauerstoffverbrauch (AVD_{pO_2} , im Bild durch Rasterung hervorgehoben) initial am größten, erreicht nach dem ersten Viertel der Konservierungszeit ein Minimum und zeigt dann eine geringe, gleichmäßige Zunahme.

Der arterielle pCO_2 -Wert zeigt nach einem initialen Anstieg eine fallende Tendenz, ebenso der venöse. Die AVD_{pCO_2} ist zunächst mit 2,8 mm Hg (0,5 h - Wert) relativ klein, erreicht bald jedoch einen konstanten Wert von 6 - 7 mm Hg, der in etwa für die ganze Konservierungsperiode beibehalten wird.

3.1.2. Der Intermediärstoffwechsel

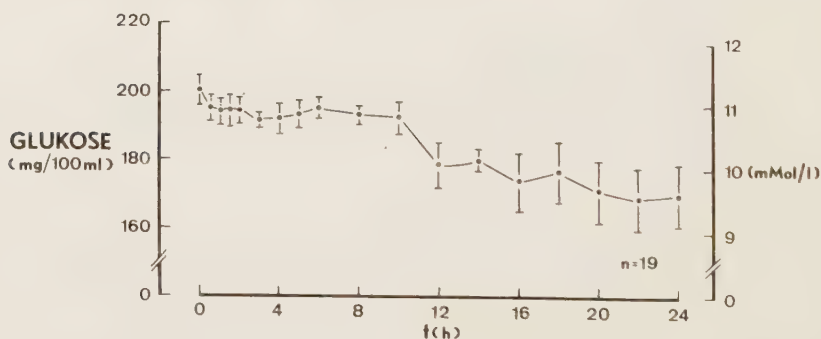


Abb. 7. Glukosekonzentration im Perfusat während Konservierung

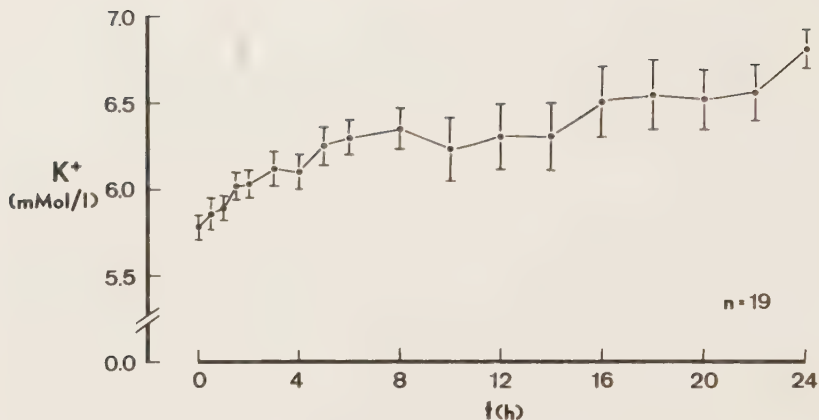


Abb. 9. Kaliumkonzentrationen im Perfusat
während Konservierung

Aus dem Konzentrationsanstieg im Perfusat von 1,03 mMol/l und dem Perfusatvolumen von 1500 ml (Füllungsvolumen der Perfusionskammer) läßt sich ein Kaliumverlust des Herzens von 1,55 mMol errechnen. Die konservierten Herzen hatten ein mittleres Gewicht von 249 g. Der Wasseranteil an der Herzmasse beträgt 79,2 % (109), entsprechend 197,2 ml. Vom Gesamtwasser entfallen auf das intrazelluläre Wasser 55 % entsprechend 108,4 ml. Geht man von einer intrazellulären Kaliumkonzentration von 157 mMol/l aus, so errechnet sich das intrazelluläre Gesamtkalium der konservierten Herzen zu 17 mMol. Der Anteil des freigesetzten Kaliums am gesamten intrazellulären Kalium beträgt somit 9,1 %.

Ein Verhalten, das dem Verlauf der Kaliumkonzentration analog ist, zeigen die Perfusatspiegel eines anderen intrazellulär konzentrierten Elektrolyten an, die des anorganischen Phosphats (Abb. 10). Allerdings ergibt hier eine entsprechende Berechnung nur einen Anteil von 1,61 % des freigesetzten am gesamten intrazellulären Phosphat.

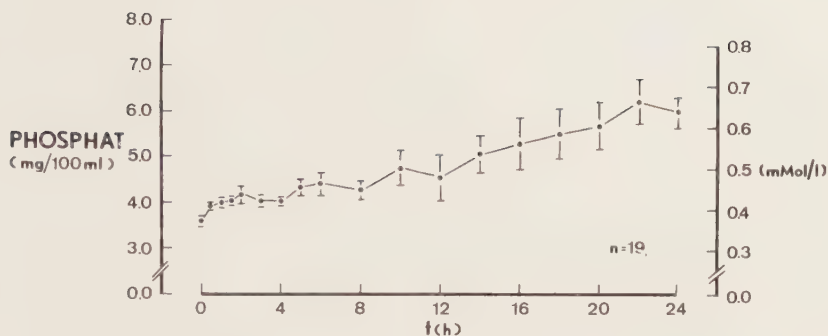


Abb. 10. Konzentrationen des anorganischen Phosphats im Perfusat während Konservierung

An den Zeitverläufen der intrazellulär niedrig konzentrierten Elektrolyte Na^+ und Cl^- (Abb. 11) lassen sich keine deutlichen Veränderungen erkennen. Berechnet man aus den Mittelwerten der Natriumkonzentrationen zu den verschiedenen Abnahmezeiten eine lineare Regression, so ergibt sich eine Regressionsgerade, die parallel zur Zeitachse ist. Die y-Achse wird von der Regressionsgeraden bei einer Na^+ -Konzentration von 141,05 mMol/l geschnitten

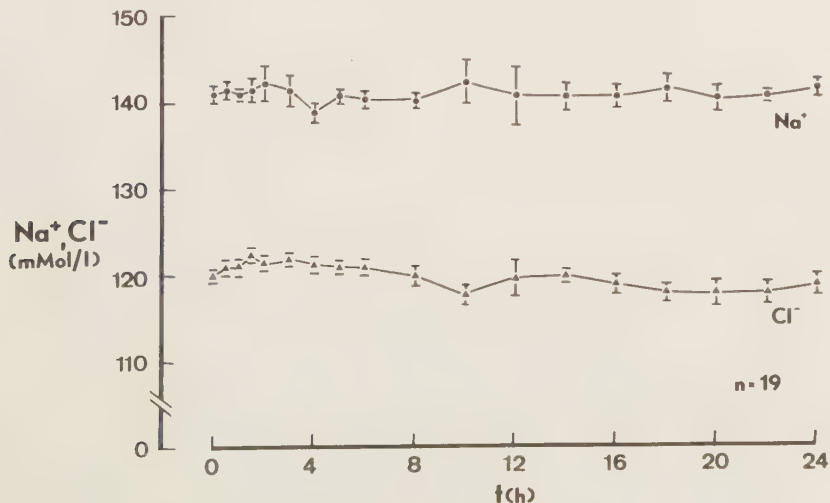


Abb. 11. Na^+ - und Cl^- -Konzentrationen im Perfusat

3.1.4. Die Enzyme

Als weiteren Indikator für Umfang und Art der zellulären Schädigung während der Konservierungsphase verfolgten wir den Zeitverlauf von vier Enzymen, die in verschiedenen Kompartimenten der Myokardzelle in hoher Konzentration vorliegen, nämlich der zytoplasmatischen Enzyme Kreatinphosphokinase (CPK) und α -Hydroxybutyratdehydrogenase (α -HBDH, identisch mit den Isoenzymfraktionen 1 und 2 der Laktatdehydrogenase (LDH)), ferner der bilokulären (= im Zytoplasma und den Mitochondrien vorkommenden) Glutamat-Oxalazetat-Transaminase (GOT) und der mitochondrialen Glutamat-Dehydrogenase (GLDH).

Bei jedem der vier Enzyme fanden wir einen kontinuierlichen Anstieg der Aktivitäten über die gesamte Konservierungsphase hinweg (Abb. 12. a-d).

Zur Verdeutlichung des Umfangs der freigesetzten Enzymmengen sei wiederum der Anteil des freigesetzten Enzyms am gesamten Enzymgehalt des Organs überschlägig ermittelt:

Tab. 4. Gesamte Enzymfreisetzung aus dem Myokard bei 24 h Konservierung

Enzym	Konzentration im Myokard in U/g (202)	Gesamtmenge bei 249 g Herzgewicht*	Gesamte Enzymfrei- setzung (U)	% des Gesamt- enzym- gehalts
CPK	350	87 150	210	0,24
α -HBDH	124	30 876	117	0,38
GOT	52	12 948	28	0,22
GLDH	1,1	274	1,3	0,47

* Mittleres Herzgewicht bei den 19 Versuchen der Gruppe I.

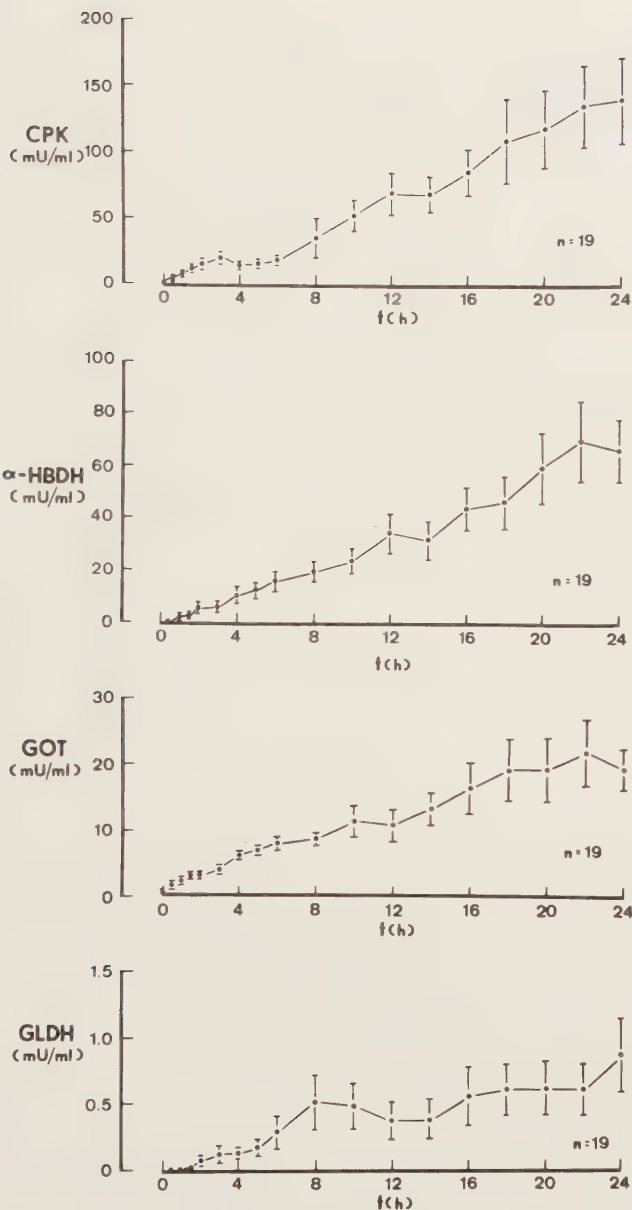


Abb. 12. a - d . Zeitverlauf der Enzymaktivitäten während der Konservierungsphase

3.1.5. Herzgewicht und Koronarfluß

Die Zunahme des Herzgewichts während der Konservierungszeit belief sich auf 13,1 %. Ein Zehntel dieses Gewichtszuwachses wurde innerhalb des Zeitraums des Funktionstests wieder eliminiert.

Die Abnahme des Gesamtflusses durch die Koronarien betrug 39,7 %.

Das Verhalten des Herzgewichts während Konservierung und funktioneller Testung sowie das des Koronarflusses während der Konservierungszeit ist in Abb. 13 dargestellt.

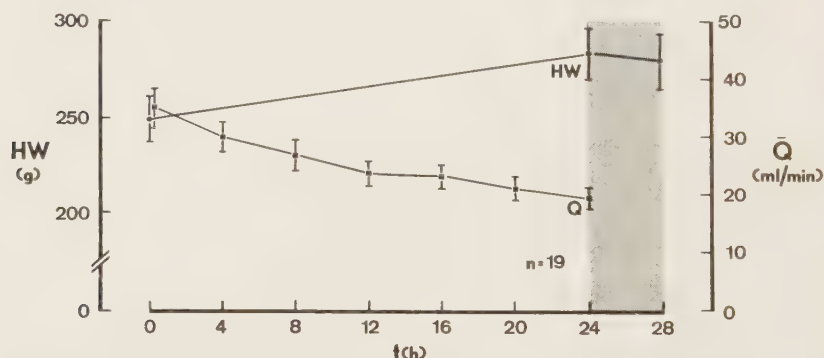


Abb. 13. Herzgewicht und Koronarfluß

(Die gerasterte Fläche gibt den Zeitraum des Funktionstests wieder, daß Herzgewicht bei 28 h ist der Mittelwert aus 11 Versuchen mit Wiederbelebung im parabetischen Präparat und 8 Transplantationsexperimenten unter Standardbedingungen)

3.2. ERGEBNISSE BEI DER WIEDERBELEBUNG NACH KONSERVIERUNG

UNTER STANDARDISIERTEN BEDINGUNGEN

(Gruppe II, vgl. 2.3.)

3.2.1. Performancediagramme

Zur funktionellen Beurteilung der konservierten Herzen im isolierten, isovolumetrisch schlagenden Präparat wurden Arbeitsdiagramme nach FRANK (69) und STARLING (219) zugrunde gelegt.

Während im klassischen Arbeitsdiagramm nach FRANK die Kurve der isovolumetrischen Maxima in Abhängigkeit vom Ventrikelvolumen wiedergegeben wird, wurden in diesem Fall die linksventrikulären Spitzendrucke (LVP) auf den enddiastolischen Druck (LVedP) bezogen. Dieser ist seinerseits als Parameter für die enddiastolische Faserspannung (s.u.) direkt mit der Ventrikelfüllung korreliert. Die Beziehung $LVP = f(LVedP)$ wird im folgenden kurz als Performancediagramm bezeichnet (vgl. Abb. 14 und 15)

3.2.2. Compliancediagramme

Zusätzlich zur Performance sollte noch die Dehnbarkeit (Compliance) der konservierten Herzen beurteilt werden. Die Compliance ist definiert durch den Quotienten $\Delta V / \Delta P$. Im Falle der isolierten Herzpräparation ist V das in den Ballonkatheter eingefüllte Volumen LVV und P der Druck, der passiv im linken Ventrikel aufgrund der Faserspannung entsteht, die durch das eingefüllte Volumen erzeugt wird. Dieser Druck ist unmittelbar vor Beginn der aktiven Kontraktion, mithin am Ende der Diastole zu messen (LVedP). Die Compliance nimmt große Werte an, wenn eine große Zunahme der Ventrikelfüllung $\Delta LVV / HW$ durch einen geringen Druckanstieg $\Delta LVedP$ beantwortet wird, wenn also die Steigung in der Beziehung $LVP = f(LVV / HW)$ (vgl. Abb. 16 und 17) klein ist.

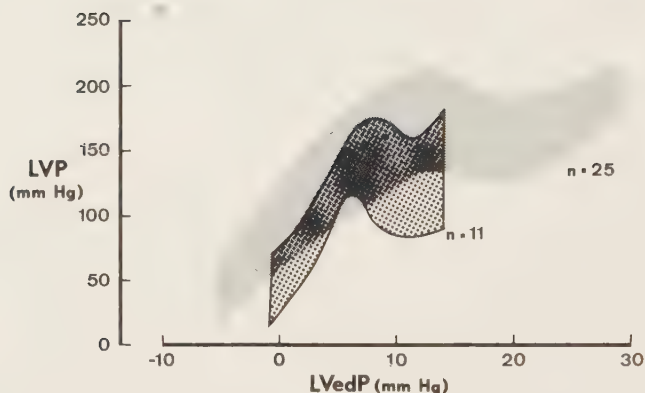


Abb. 14. Gepoolte (vgl. 2.3.) Performancediagramme von konservierten Herzen, unmittelbar nach Wiederbelebung gewonnen (grober Raster, umrandet), verglichen mit gepoolten Performancediagrammen nicht konservierter Herzen (feiner Raster)(80)

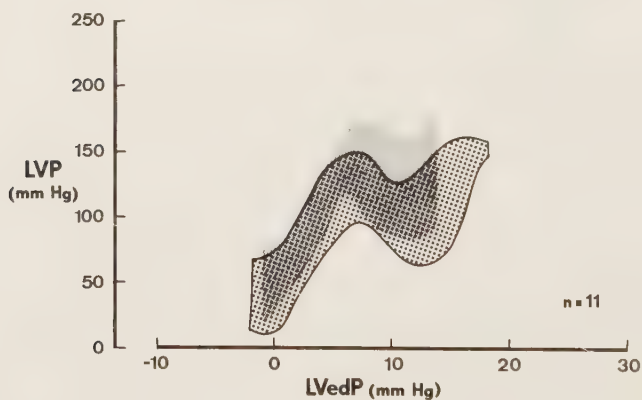


Abb. 15. Vergleich der Performancediagramme, die unmittelbar nach Wiederbelebung (feiner Raster) und 4 h nach Wiederbelebung (grober Raster, umrandet) erstellt wurden

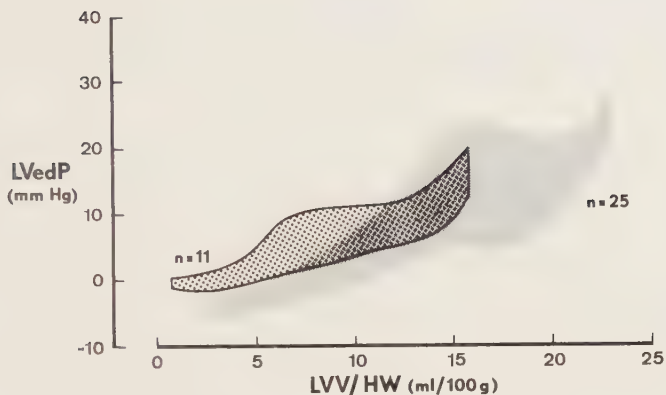


Abb. 16. Gepoolte Compliancediagramme von konservierten Herzen, unmittelbar nach Wiederbelebung gewonnen (grober Raster, umrandet), verglichen mit gepoolten Compliancediagrammen nicht konservierter Herzen (feiner Raster)(80)

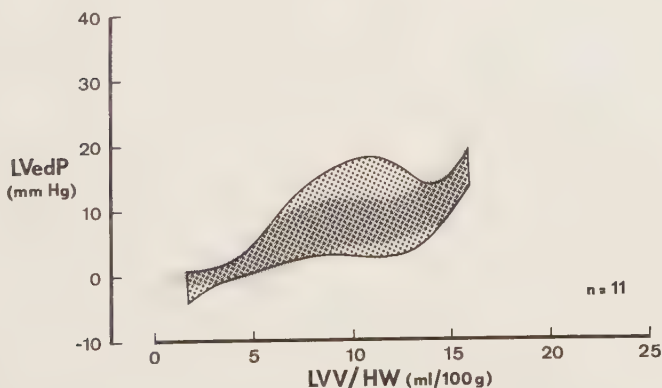


Abb. 17. Vergleich der Compliancediagramme, die unmittelbar nach Wiederbelebung (feiner Raster) und 4 h nach Wiederbelebung (grober Raster, umrandet) erstellt wurden

3.3. ERGEBNISSE BEI DER WIEDERBELEBUNG NACH KONSERVIERUNG UNTER STANDARDISIERTEN BEDINGUNGEN UND ZUSÄTZLICHER ANOXISCHER LAGERUNG VON EINER STUNDE

(Gruppe III, vgl. 2.3.)

Einer der wesentlichsten Unterschiede zwischen der Funktionsbeurteilung im parabiologischen Präparat und jener im Transplantationsexperiment besteht in der Tatsache, daß im ersten Fall die Zeit zwischen Beendigung der Konservierungsphase (Entnahme aus der Konservierungseinheit) und Beginn der normothermen Reperfusion mit arteriellem Blut nur ca. 15 Minuten, bei der Transplantation aber ca. 60 Minuten beträgt. Um den Einfluß dieser zusätzlichen Anoxiezeit auf die Funktionsfähigkeit des Herzens zu untersuchen, wurde in drei Versuchen das Herz nach 24-stündiger Konservierung unter den beschriebenen Bedingungen noch insgesamt 60 Minuten bei Zimmertemperatur anoxisch gelagert und erst dann im parabiologischen Präparat wiederbelebt.

Die Beurteilung der Funktion erfolgte anhand der in 3.2. beschriebenen Compliance- bzw. Performancebeziehungen. Die Ergebnisse sind in den Abb. 18 und 19 dargestellt. Bei den Performancediagrammen zeigt sich, daß der linksventrikuläre Spitzendruck bei vergleichbaren enddiastolischen Drücken überwiegend im unteren Drittel, teilweise sogar unterhalb des Bereichs liegt, der durch die gepoolten Diagramme aus den Versuchen ohne anoxische Lagerung (vgl. 3.2.) gegeben ist. Um LVP-Werte zu erreichen, die denen des Vergleichskollektivs entsprechen, sind weit höhere Füllungsdrucke notwendig. Ein Vergleich der Regressionskurven, die sofort und 4 h nach Wiederbelebung gewonnen wurden, zeigt, daß das maximal erreichbare LVP nach 4 h nur noch 70 % des 0 h-Werts beträgt, während es bei konservierten Herzen ohne anoxische Lagerung lediglich auf 85 % abfällt (vgl. Abb. 15).

Bei den Compliancediagrammen wird eine starke Verminderung der Compliance deutlich. In der Beziehung $L_{VedP} = f(L_{VV}/HW)$

zeigt sich eine merkliche Versteilerung gegenüber den konservierten Herzen ohne anoxische Lagerung. Betrachtet man den Quotienten dV/dP , z.B. am Abszissenwert 12 ml/100 g, so gelangt man zu folgenden Werten (Tab. 5):

Tab. 5. Compliance von konservierten Herzen mit und ohne zusätzlicher Anoxiezeit von 1 Stunde

Zeit nach Wieder- belebung	Konservierte Herzen ohne Anoxiezeit	Konservierte Herzen nach 1 h Anoxie
0 h	2,5 $\frac{\text{ml}}{\text{mm Hg} \cdot 100\text{g}}$	0,225 $\frac{\text{ml}}{\text{mm Hg} \cdot 100\text{g}}$
4 h	2,7 "	0,275 "

Das Complianceverhalten hat sich nicht wie die Performance verschlechtert, sondern ist mit zunehmender Dauer der parabiologischen Perfusion eher etwas besser geworden.

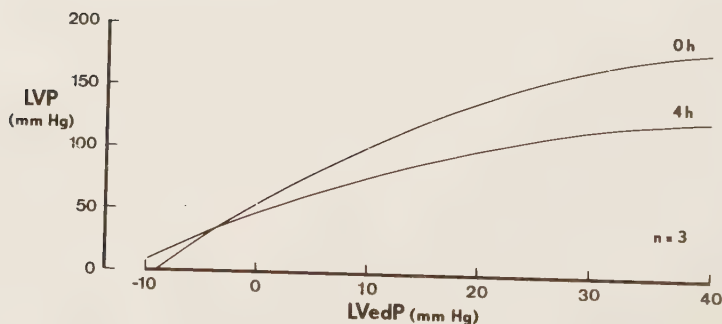
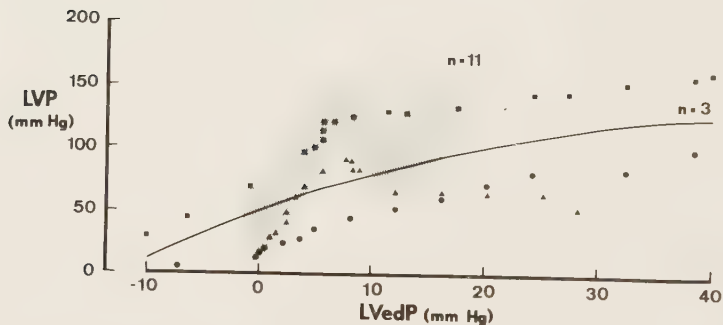
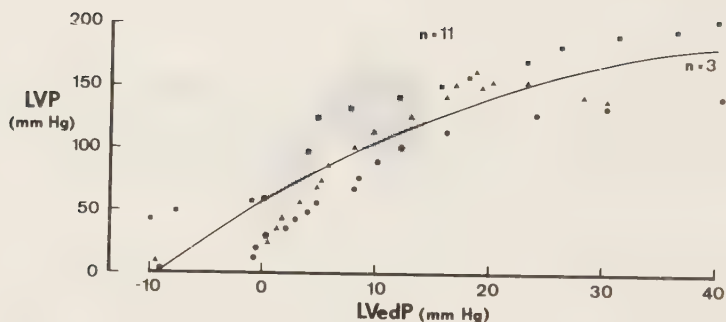


Abb.18. a-c. Performancediagramme von konservierten und 1 h anoxisch gelagerten Herzen. Eingezeichnet sind die LVedP/LVP-Wertepaare für jeden der drei Versuche (●, ▲, ■), die aus diesen Wertepaaren errechnete quadratische Regression, sowie der entsprechende Wertebereich von konservierten Herzen ohne anoxische Lagerung. Im oberen Graphen sind die Werte unmittelbar nach Wiederbelebung, im mittleren Bild sind die 4 h danach gewonnenen wiedergegeben. Im untersten Bild sind die 0 h und die 4 h-Kurven der anoxisch gelagerten Herzen verglichen.

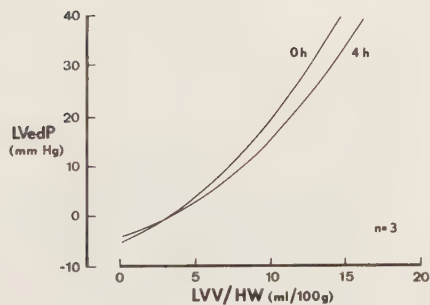
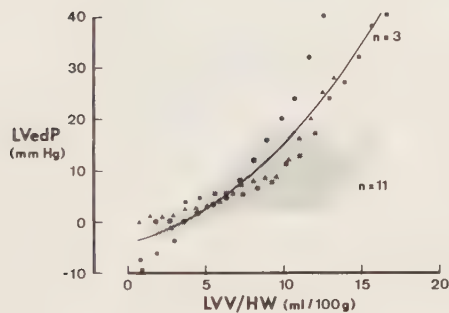
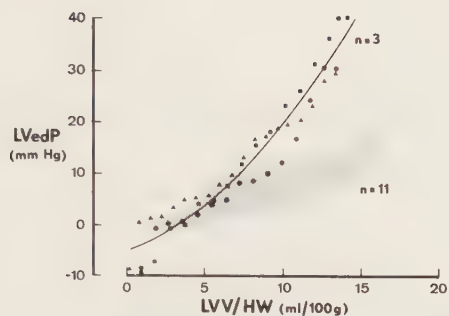


Abb. 19. a-c. Compliancediagramme von konservierten und 1 h anoxisch gelagerten Herzen (Darstellung in Analogie zu Abb. 18)

3.4. ERGEBNISSE BEI DER KONSERVIERUNG MIT UNTERSCHIED- LICHEM PH - WERT IM PERFUSAT UND ANSCHLIESSENDER FUNKTIONSBEURTEILUNG

(Gruppe IV, vgl. 2.3.)

Das in 2.1. geschilderte System zur pH-Regelung ermöglicht es, durch Wahl geeigneter O_2/CO_2 -Mischungsverhältnisse für die Treibgase den pH-Wert im Perfusat in einem weiten Bereich einzustellen. Mit Hilfe der klinisch-chemischen Parameter, die während der Konservierungsphase gemessen wurden, sowie anhand von Performance-, Compliance- und Kontraktilitätsbeziehungen, die während des Funktionstests im parabiologischen Präparat erstellt wurden, soll ein Anhalt für einen innerhalb unseres Konservierungssystems optimalen Perfusat-pH-Wert gewonnen werden.

3.4.1. Ergebnisse aus der Konservierungsphase

Die Zeitverläufe der einzelnen Parameter sind in den Abb. 20 - 26 als Funktion des pH-Werts dargestellt.

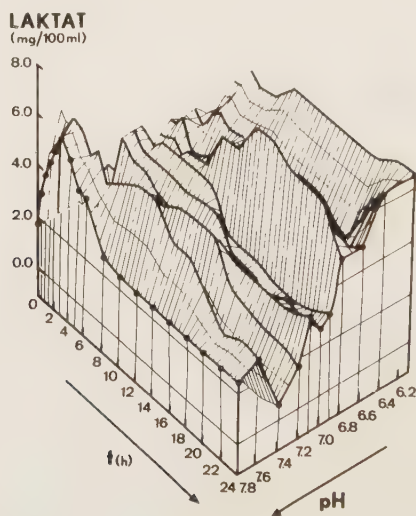


Abb. 20. Laktatkonzentrationen
in Abhängigkeit von Zeit und pH

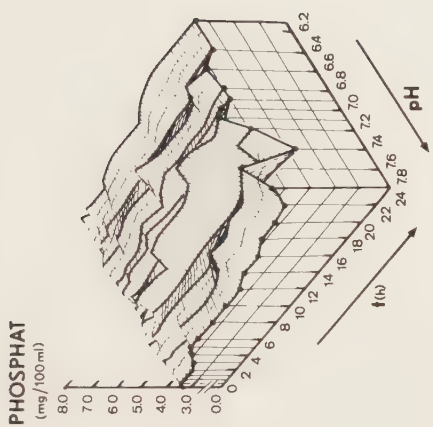


Abb. 22. Phosphatkonzentrationen
im Perfusat in Abhängigkeit von der Zeit und vom pH - Wert

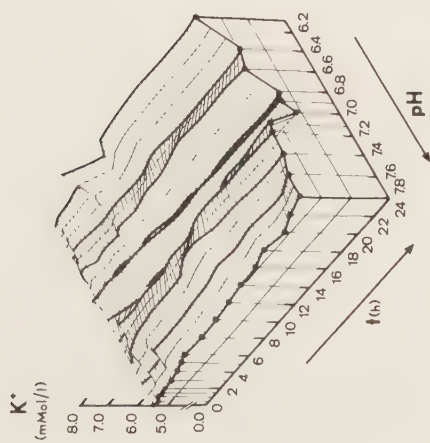


Abb. 21. Kaliumkonzentrationen
im Perfusat in Abhängigkeit von der Zeit und vom pH - Wert

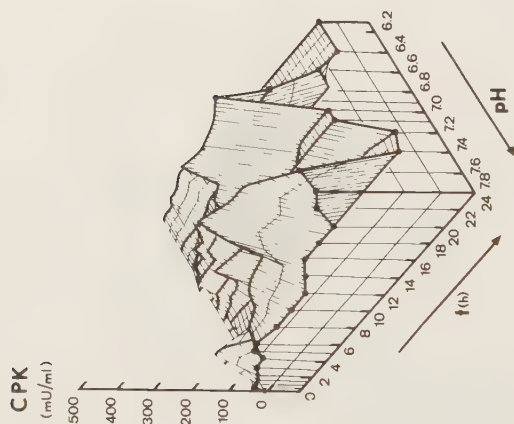


Abb. 23. CPK-Aktivitäten

im Perfusat in Abhängigkeit von der Zeit und vom pH - Wert

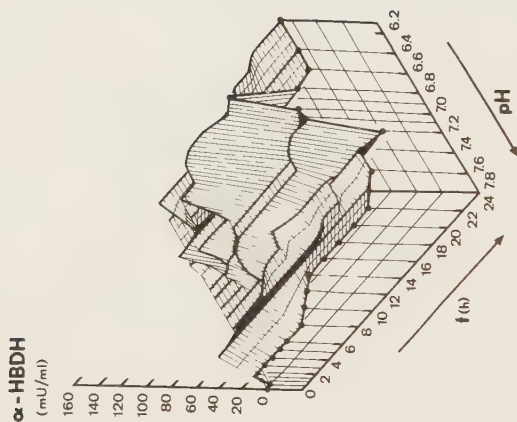


Abb. 24. α -HBDH-Aktivitäten

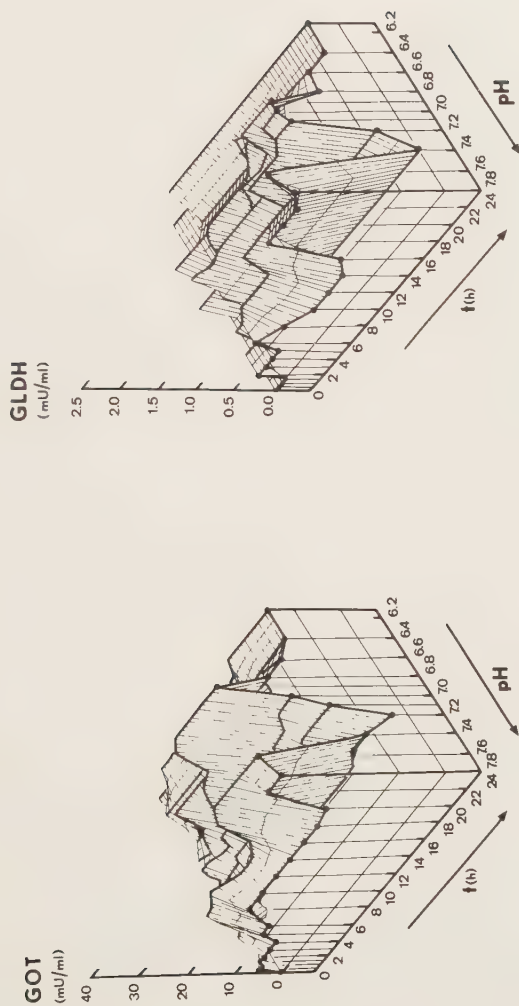


Abb. 25. GOT-Aktivitäten
im Perfusat in Abhängigkeit von der Zeit und vom pH-Wert

Abb. 26. GLDH-Aktivitäten
im Perfusat in Abhängigkeit von der Zeit und vom pH-Wert

Aus den Abb. 20 - 26 ist ersichtlich, daß die untersuchten Parameter ihre Minimalwerte bei folgenden pH-Werten erreichen:

Laktat	pH 7,4
Kalium	pH 7,0
Phosphat	pH 7,4
CPK	pH 7,2
α -HBDH	pH 7,2
GOT	pH 7,2
GLDH	pH 7,4

Während besonders beim Laktat, aber auch bei Kalium und Phosphat die Minimalwerte im Vergleich zu den Zeitverläufen bei sehr niedrigen und sehr hohen pH-Werten recht gut abgegrenzt sind, finden wir bei den Enzymwerten bei extrem niedrigen pH-Werten einen nochmaligen Abfall, wobei allerdings in keinem Fall wieder die Minimalwerte erreicht werden.

3.4.2. Ergebnisse aus der Funktionsbeurteilung

Zur Funktionsbeurteilung wurden wiederum Performance- und Compliancebeziehungen verwendet und in Beziehung zu dem pH-Wert gesetzt, bei dem das getestete Herz konserviert worden war (Abb. 27 - 30).

Daneben wurde noch die Druckanstiegsgeschwindigkeit (erste Ableitung des linksventrikulären Drucks nach der Zeit (dP/dt)) registriert. Diese erreicht ihren Maximalwert ($dP/dt_{\max}$) bei einem bestimmten linksventrikulären Druck $LVP_{(dP/dt_{\max})}$ (auch instantaner Druck (IP) genannt). Mit steigenden linksventrikulären Volumina (LVV) steigt auch der linksventrikuläre Spitzendruck (LVP) und die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit ($dP/dt_{\max}$), die bei entsprechend höheren linksventrikulären Drucken $LVP_{(dP/dt_{\max})}$ erreicht wird. Die Abhängigkeit von $dP/dt_{\max}$ von $LVP_{(dP/dt_{\max})}$ und vom pH-Wert ist in den Abb. 31 und 32 dargestellt.

Alle Funktionskurven wurden wiederum sofort und 4 h nach Wiederbelebung im parabetischen Präparat erstellt.

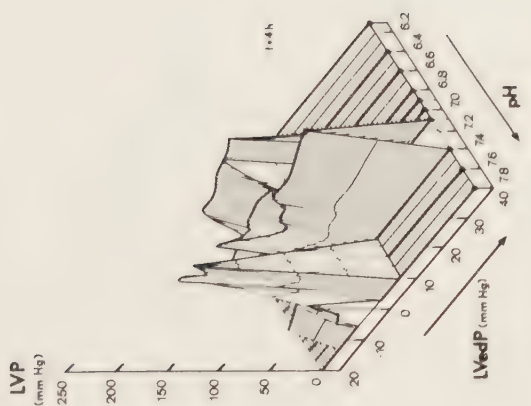


Abb. 28. Performancediagramm in Abhängigkeit vom pH-Wert, 4 h nach Wiederbelebung

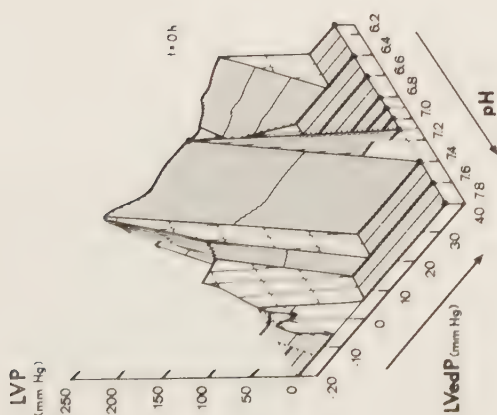


Abb. 27. Performancediagramm in Abhängigkeit vom pH-Wert, unmittelbar nach Wiederbelebung

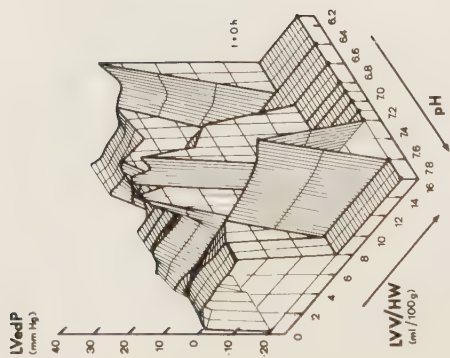


Abb. 29. Compliancediagramm in Abhängigkeit vom pH-Wert, unmittelbar nach Wiederbelebung

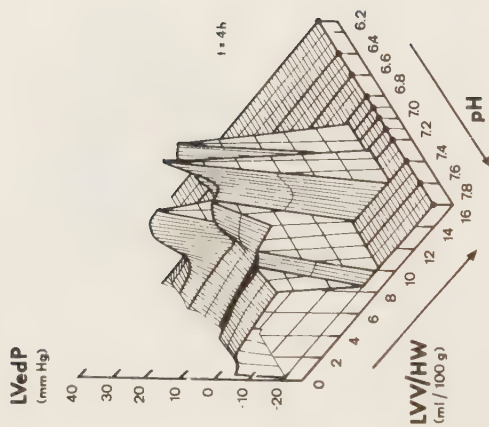


Abb. 30. Compliancediagramm in Abhängigkeit vom pH-Wert, 4 h nach Wiederbelebung

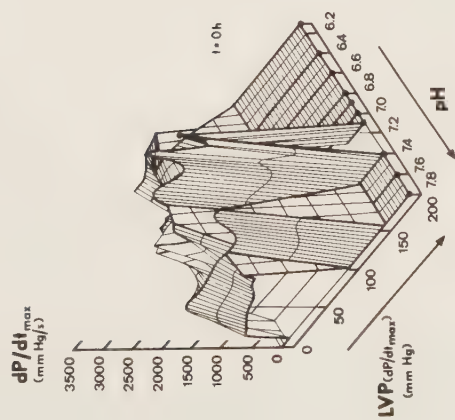


Abb. 31. Maximale Druckanstiegsge-
schwindigkeit in Abhängigkeit vom
entwickelten linksventrikulären
Druck und vom pH, unmittelbar nach
Wiederbelebung

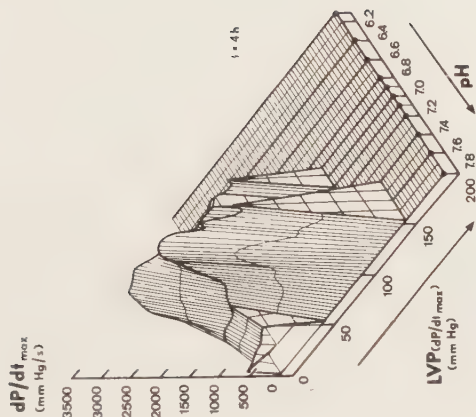


Abb. 32. Maximale Druckanstiegsge-
schwindigkeit in Abhängigkeit vom
entwickelten linksventrikulären
Druck und vom pH, 4 h nach Wieder-
belebung

Bei den Performancediagrammen in Abhängigkeit vom pH-Wert ist zu erkennen, daß bei pH 7,2 die höchsten Füllungsdrucke toleriert werden und schon bei einem LVedP-Wert von 8 mm Hg der maximale LVP-Wert von 200 mm Hg erreicht ist. Demgegenüber tolerieren die bei anderen pH-Werten konservierten Herzen nur geringere Füllungsdrucke und erzeugen bei vergleichbaren LVedP-Werten geringere linksventrikuläre Spitzendrücke.

Nach 4 Stunden ist die Situation bei den Performancediagrammen im wesentlichen unverändert. Allerdings zeigt die zu pH 7,2 gehörende Kurve insgesamt geringere LVP-Werte bei gleichgebliebener Füllungsdrucktoleranz. Die Performancekurve bei pH 7,6 zeigt keine Deterioration. Am instabilsten waren die bei sehr kleinen pH-Werten konservierten Herzen.

Bei den Compliancediagrammen stellt man unmittelbar nach Wiederbelebung (Abb. 29) die größte Volumenaufnahme (15,9 ml/100 g) bei gleichzeitig kleinen Füllungsdruckten bei pH 7,4 fest. Bei pH 7,6 und 7,8 bleiben die Füllungsdrucke zwar noch recht niedrig (LVedP = 6 - 6,5 mm Hg), doch beschränkt sich das maximale linksventrikuläre Volumen auf 8,2 - 8,5 ml/100 g. Bei niedrigen pH-Werten konservierte Herzen tolerieren ebenfalls nur geringe Volumina (pH 6,4 - LVV=6,7 ml/100 g ; pH 6,6 - LVV= 6,4 ml/100 g ; pH 7,2 - LVV=8,6 ml/100 g) oder es wurde eine weitere Volumenerhöhung mit starker Zunahme des enddiastolischen Drucks beantwortet (pH 6,1 - LVV=11,3 ml/100 g - LVedP=28 mm Hg ; pH 7,0 - LVV=11,7 - LVedP=16 mm Hg ; pH 7,1 - LVV=11,6 ml/100 g - LVedP=34 mm Hg).

Nach 4 Stunden ist wiederum im Bereich der sehr niedrigen pH-Werte die stärkste Deterioration festzustellen. Bei pH 7,0 und 7,2 findet man gegenüber den 0-Stunden-Kurven sogar eine vergrößerte Volumenaufnahme (13,2 bzw. 13,4 ml/100 g), wobei jedoch LVedP-Werte von 32 und 40 mm Hg erreicht werden. Die Compliancekurve bei pH 7,4 zeigt zwar eine Verminderung der Volumentoleranz von 16 auf 10 ml/100g, hat aber keine übermäßigen Anstiege des enddiastolischen

Drucks aufzuweisen.

Vergleicht man die maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeiten ($dP/dt_{\max}$) in den Kurven für pH 7,1 bis 7,8 in einem kleinen Bereich für $LVP_{(dP/dt_{\max})}$ von 104-112 mm Hg, kommt man zu folgenden Werten:

pH	7,8	7,6	7,4	7,2	7,1	
$dP/dt_{\max}$	1380	1700	2300	2140	1680	mm Hg/s

Zwar werden bei pH 7,6 und pH 7,2 wegen der höheren $LVP_{(dP/dt_{\max})}$ - Werte auch höhere Werte für $dP/dt_{\max}$ erreicht, doch stehen dem hohe enddiastolische Drucke (pH 7,2) und/oder geringe Füllungsvolumina gegenüber.

Bei niedrigeren als den eben untersuchten pH-Werten konservierte Herzen zeigen bei $LVP_{(dP/dt_{\max})}$ -Werten von 68 - 100 mm Hg (pH 6,1 - 6,9) maximale $dP/dt_{\max}$ Druckanstiegsgeschwindigkeiten von 715 (pH 6,1) bis 1300 (pH 6,9) mm Hg/s. Führen wir nach vier Stunden einen Vergleich wie den obigen durch innerhalb eines $LVP_{(dP/dt_{\max})}$ -Bereichs von 100-116 mm Hg, kommen wir zu folgenden Ergebnissen:

pH	7,8	7,6	7,4	7,2	7,1
$dP/dt_{\max}$	---	2900	2750	---	1600

Zu pH 7,8 und 7,2 sowie zu anderen pH-Werten gehörende $dP/dt_{\max}$ konnten in diesen Vergleich nicht mit einbezogen werden, da die erreichten $LVP_{(dP/dt_{\max})}$ nur Werte zwischen 56 und 86 mm Hg erreichten mit $dP/dt_{\max}$ von 720 - 980 mm Hg/s.

Bei den Herzen, die im Bereich zwischen pH 6,1 und 6,8 konserviert worden waren, konnten hier wie bei den anderen Beziehungen keine Werte ermittelt werden, da die Herzen vor Ablauf der vierstündigen Frist irreversibel in Fibrillation übergegangen waren.

3.5. ERGEBNISSE BEI DER KONSERVIERUNG MIT UNTERSCHIED- LICHEN PERFUSIONSDRUCKEN

(Gruppe V, vgl. 2.3.)

Durch die in 2.1. geschilderte Anordnung war es ferner möglich, eine andere Randbedingung des Perfusionsverfahrens zu variieren, den Perfusionsdruck.

Innerhalb eines Bereichs zwischen 5 und 40 cm H₂O sollte anhand von klinisch-chemischen Parametern ein Perfusionsdruck ermittelt werden, bei dem von einer minimalen Traumatisierung des konservierten Organs ausgegangen werden kann.

Neben den klinisch-chemischen Parametern ist die perfusionsbedingte Zunahme des Herzgewichts ein wichtiger Anhaltspunkt für die Integrität des Herzens:

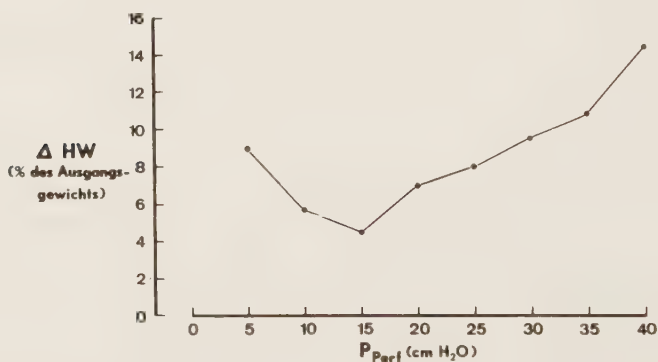


Abb. 33. Zunahme des Herzgewichts als Funktion des Perfusionsdrucks während Konservierung

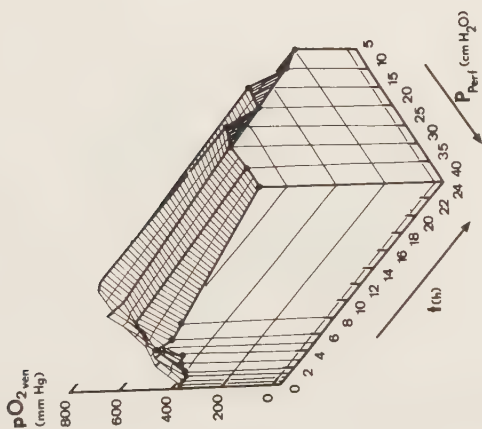


Abb. 34. Sauerstoffpartialdrucke im
venösen Perfusat in Abhängigkeit
von der Zeit und vom Perfusionsdruck

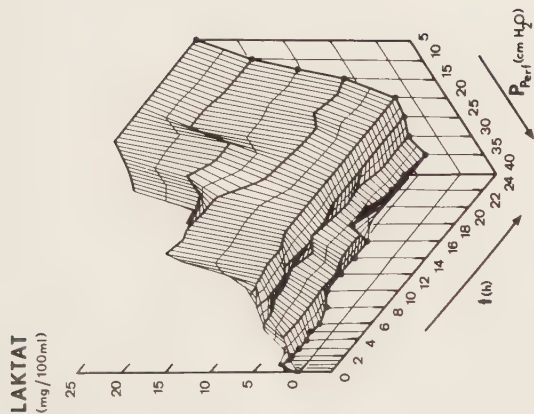


Abb. 35. Laktatkonzentrationen im
Perfusat in Abhängigkeit von der
Zeit und vom Perfusionsdruck

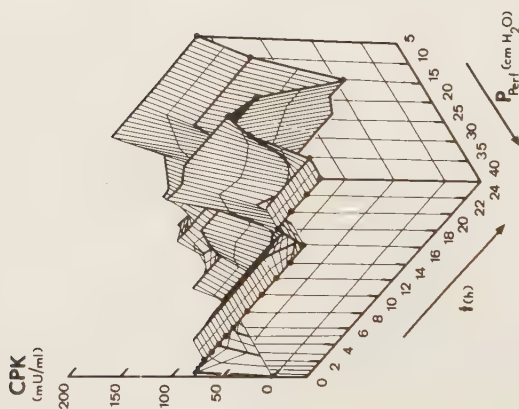


Abb. 36. CPK-Aktivitäten in Abhängigkeit von der Zeit und vom Perfusionssdruck

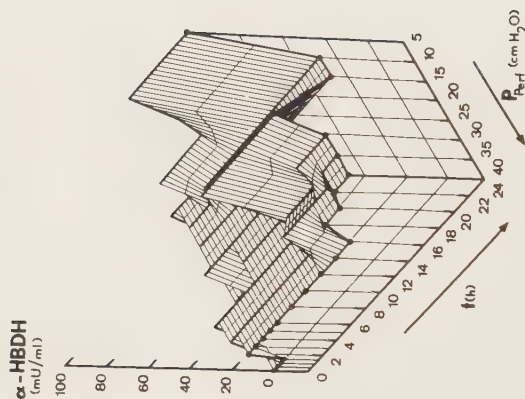


Abb. 37. α -HBDH-Aktivitäten in Abhängigkeit von der Zeit und vom Perfusionssdruck

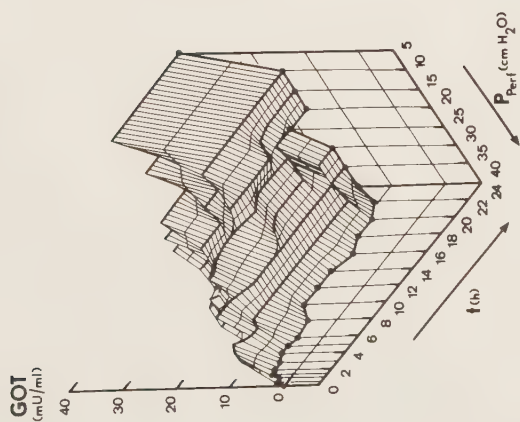


Abb. 38. GOT-Aktivitäten in Abhängigkeit von der Zeit und vom Perfusionssdruck

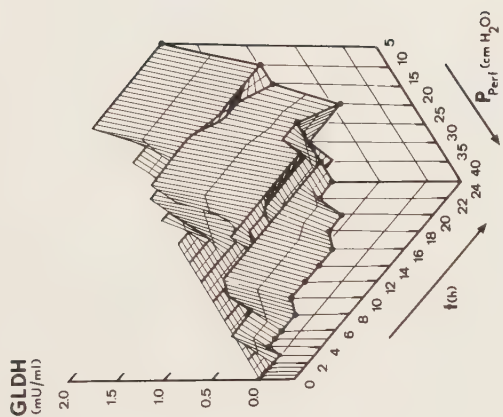


Abb. 39. GLDH-Aktivitäten in Abhängigkeit von der Zeit und vom Perfusionssdruck

Die untersuchten Parameter nahmen mithin bei folgenden Perfusionsdrucken ihre Minimalwerte an:

Gewichtszunahme	15 cm H ₂ O
Laktat	20 cm H ₂ O
CPK	15 cm H ₂ O
α -HBDH	15 cm H ₂ O
GOT	nicht festlegbar
GLDH	20 cm H ₂ O

Der venöse Sauerstoffpartialdruck nahm vom kleinsten Perfusionsdruck (5 cm H₂O) an zu und erreichte im Bereich zwischen 25 und 40 cm H₂O ein Plateau zwischen 682 und 716 mm Hg.

3.6. ERGEBNISSE BEI DER ORTHOTOPEN TRANSPLANTATION VON KONSERVIERTEN HERZEN

(Gruppe VI, vgl. 2.3.)

Insgesamt wurden zwölf konservierte Herzen durch orthotope Transplantation auf ihre Funktionstüchtigkeit getestet. Eine Übersicht über das Versuchsgut gibt Tab. 6. Aus ihr geht hervor, daß in 6 Experimenten das konservierte Herz die Kreislaufast bei entsprechender medikamentöser Stützung (vgl. 2.2.4.4.) zu übernehmen imstande war. Die geringste Überlebensdauer betrug 7 Minuten, was auf eine iatrogene Luftembolie in die Koronarien zurückzuführen war, die längste 7 3/4 Stunden. In den Versuchen 9 bis 12 war die in 2.2.4.3. beschriebene Modifikation in der Reperfusion angewendet worden, bei der der Perfusionsdruck in den Koronarien (CPP) von sehr kleinen Werten allmählich auf den Wert des arteriellen Systemdrucks gesteigert wurde. In all diesen Fällen gelang es, den Bypass zu beenden, während dies in den acht Versuchen, in denen die Koronarien in der Reperfusionsphase akut mit dem vollen Systemdruck perfundiert wurden, nur zweimal der Fall war. In Abb. 40 sind Originalregistrierungen von einem transplantierten Herzen (Transpl.Exp. Nr. 5) wiedergegeben, die unmittelbar nach Bypassende und 4 Stunden danach, d.h. in diesem Fall kurz vor Beendigung des Versuchs, aufgenommen wurden. Von oben nach unten sind aufgetragen der linksventrikuläre enddiastolische Druck LVEDP, der linksventrikuläre Spitzendruck LVP, die Druckanstiegsgeschwindigkeit dp/dt , der Blutdruck in der Aorta AoP sowie die Länge L eines Muskelsegments des linken Ventrikels; diese ist durch den Abstand zweier Bariumtitankristalle mit 1,5 - 2 mm $\varnothing$ gegeben, welche als Sender bzw. Empfänger von Ultraschallwellen fungieren und eine kontinuierliche Messung der so bestimmten, kontraktionsphasenabhängigen Segmentlänge mit Hilfe der Schallaufzeit ermöglichen (84).

Tab. 6. Ergebnisse bei der Transplantation konservierter Herzen

Trans- plant. Exp. Nr.	Bypass- zeit bis Reper- fusions- beginn (Min.)	Modifi- zierte Reper- fusion	Überle- benszeit n.Bypass ende (Min.)	Arterieller Druck syst./diast. (mm Hg.) 0 h 1 h 2 h 4 h 7 h nach Bypassende						Zentralvenöser Druck (mm Hg.) 0 h 1 h 2 h 4 h 7 h nach Bypassende					
				Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
1	81	nein	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
2	85	nein	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
3	70	nein	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
4	60	nein	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
5	59	nein	250	100/50	108/56	144/75	168/60	Ø	Ø	8	8	12	10	Ø	Ø
6	65	nein	60	148/92	90/44	Ø	Ø	Ø	Ø	10	10	Ø	Ø	Ø	Ø
7	63	nein	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
8	66	nein	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
9	75	ja	7	120/80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	10	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
10	61	ja	150	100/40	100/64	100/60	Ø	Ø	Ø	12	10	8	Ø	Ø	Ø
11	59	ja	465	100/36	116/68	120/60	108/44	84/32	Ø	10	7	6	5	9	Ø
12	72	ja	80	74/44	84/48	Ø	Ø	Ø	Ø	8	9	Ø	Ø	Ø	Ø

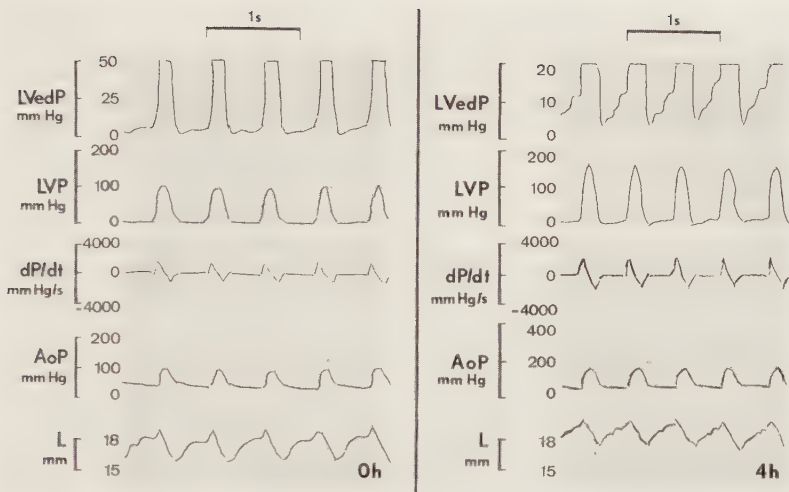


Abb. 40. Originalregistrierungen aus dem Transplantationsexperiment Nr. 5, erhalten unmittelbar nach Beendigung der extrakorporalen Zirkulation (0 h) und kurz vor Beendigung des Versuchs

Während der 4-stündigen Versuchsdauer zeigte sich ein Anstieg des enddiastolischen Drucks von 7 auf 13 mm Hg. Der Spitzendruck LVP stieg in diesem Experiment von 100 auf ca. 170 mm Hg, gleichzeitig damit die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit $dP/dt_{\max}$ von 1800 auf 2600 mm Hg/s. Der Blutdruck stieg von einem Wert von 100/50 mm Hg auf ca. 170/80 mm Hg.

Anhand der Segmentlänge ließ sich das Kontraktionsmuster der Ventrikelmuskulatur innerhalb eines Herzzyklus verfolgen:

Mit Beginn der isovolumischen Kontraktion kommt es zu einer Umformung des Ventrikels aus einer ellipsoiden in eine eher kugelförmige Gestalt. Dadurch nimmt der kleine Herzdurchmesser und konsekutiv die Oberflächenkrümmung zu, was eine geringe Dehnung des Muskels zur Folge hat. In der an-

schließenden (isotonen) Austreibungsphase wurde eine Verkürzung des Segments mit annähernd gleichförmiger Geschwindigkeit gefunden. Am Ende der Ventrikelsystole war die kürzeste Segmentlänge erreicht. Nach Öffnung der Mitralklappe nahm in Entsprechung zur raschen diastolischen Füllungsphase die Segmentlänge initial infolge der passiven Dehnung rasch zu und zeigte dann in Analogie zur langsamen Füllungsphase einen entsprechend geringeren Anstieg. Der Zyklus wurde geschlossen mit der jetzt wiederum beginnenden isovolumischen Anspannungsphase. Dieses Kontraktionsmuster entspricht im wesentlichen dem von HAGL et al. (1975 (83)) bei normalen, d.h. nicht konservierten und/oder transplantierten Herzen beschriebenen.

Anhand des in Tab. 6 dargestellten Versuchsguts sollte weiterhin untersucht werden, ob evtl anhand einiger, während der Konservierung untersuchter Parameter eine Prognose zum Transplantationserfolg möglich ist. Zu diesem Zweck wurden die vorliegenden Versuche in zwei Gruppen eingeteilt, von denen die eine die "schlechten" Transplantationen umfaßte, bei denen eine Beendigung der EKZ nicht möglich war (Nr. 1 - 4, 7, 8) und die andere die "guten" Transplantationen, bei denen die Herzen die Kreislaufast für eine kürzere oder längere Frist übernahmen (Nr. 5, 6, 9 - 12). Aus jeder Versuchsgruppe wurden aus den zu einer Abnahmezeit gehörenden klinisch-chemischen Werten (Kalium, Phosphat, α -HBDH, GOT, GLDH, Laktat) Mittelwert und mittlerer Fehler des Mittelwerts berechnet. Ferner wurde im F-Test statistisch untersucht, ob sich die zu einer Abnahmezeit gehörenden Werte eines klinisch-chemischen Parameters aus der "guten" und der "schlechten" Gruppe signifikant unterscheiden (Irrtumswahrscheinlichkeit p kleiner als 5 %). In Tabelle 7 ist für jede Abnahmezeit t , jeden Parameter und jede Versuchsgruppe der Mittelwert $\bar{x}$ und der mittlere Fehler des Mittelwerts $s\bar{x}$ angegeben. Signifikante Unterschiede der Versuchsgruppen auf dem 5 % - Niveau sind durch ein "+" gekennzeichnet. (vgl. S. 68 u. 69)

Aus Tab. 7 geht hervor, daß unter allen untersuchten Parametern der Laktatspiegel im Perfusat als einziger signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen aufweist.

In Abb. 41 sind noch einmal graphisch die unterschiedlichen Laktat-Zeitverläufe für die beiden Versuchsgruppen dargestellt.

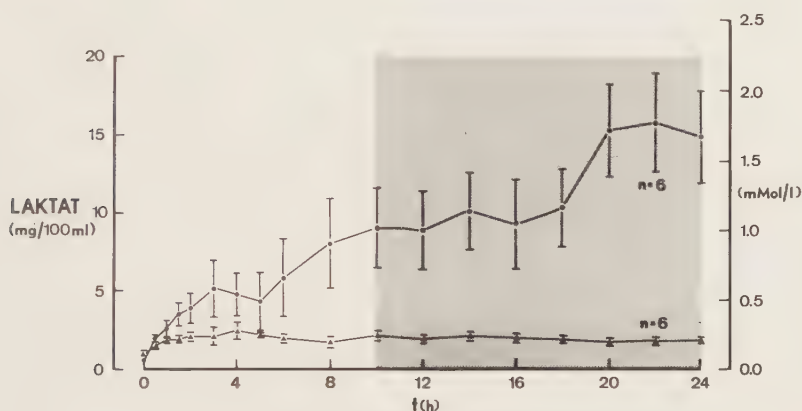


Abb. 41. Laktatwerte im Perfusat während Konservierung vor "guten" (▲—▲) bzw. "schlechten" (●—●) Transplantationen. Der Zeitbereich, in dem die Unterschiede zwischen beiden Gruppen signifikant sind, ist durch einen Raster gekennzeichnet

t (h)	K ⁺			PHOSPHAT			CPK		
	SCHLECHT	GUT	p < 0.05	SCHLECHT	GUT	p < 0.05	SCHLECHT	GUT	p < 0.05
	$\bar{x}$ s $\bar{x}$	$\bar{x}$ s $\bar{x}$		$\bar{x}$ s $\bar{x}$	$\bar{x}$ s $\bar{x}$		$\bar{x}$ s $\bar{x}$	$\bar{x}$ s $\bar{x}$	
0	5.63 ± 0.08	5.53 ± 0.07	-	3.40 ± 0.03	3.45 ± 0.04	-	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	-
0.5	5.76 ± 0.09	5.63 ± 0.06	-	3.63 ± 0.11	3.72 ± 0.08	-	4.04 ± 2.74	4.13 ± 2.74	-
1.0	5.89 ± 0.13	5.68 ± 0.06	-	3.67 ± 0.17	3.99 ± 0.17	-	8.04 ± 2.92	4.12 ± 1.84	-
1.5	5.94 ± 0.12	5.72 ± 0.07	-	3.81 ± 0.26	3.98 ± 0.13	-	13.58 ± 5.86	5.49 ± 2.75	-
2.0	5.93 ± 0.12	5.79 ± 0.11	-	3.85 ± 0.14	4.12 ± 0.15	-	13.58 ± 5.86	8.24 ± 3.01	-
3.0	5.95 ± 0.17	5.88 ± 0.13	-	4.01 ± 0.28	4.11 ± 0.13	-	14.91 ± 5.76	10.99 ± 2.75	-
4.0	6.12 ± 0.13	5.96 ± 0.13	-	3.89 ± 0.13	4.27 ± 0.13	-	30.08 ± 11.54	13.73 ± 1.74	-
5.0	6.08 ± 0.14	6.03 ± 0.14	-	4.25 ± 0.25	4.33 ± 0.10	-	32.95 ± 10.77	13.73 ± 1.74	-
6.0	6.09 ± 0.13	6.17 ± 0.10	-	4.13 ± 0.33	4.57 ± 0.30	-	32.95 ± 10.77	15.11 ± 2.77	-
8.0	6.21 ± 0.18	6.21 ± 0.13	-	4.22 ± 0.26	4.56 ± 0.28	-	34.29 ± 11.04	15.11 ± 2.53	-
10.0	6.22 ± 0.20	6.20 ± 0.15	-	4.50 ± 0.33	4.86 ± 0.32	-	41.22 ± 14.52	16.48 ± 3.01	-
12.0	6.30 ± 0.18	6.30 ± 0.09	-	4.32 ± 0.26	4.85 ± 0.39	-	45.28 ± 14.55	19.15 ± 3.49	-
14.0	6.41 ± 0.17	6.40 ± 0.07	-	4.41 ± 0.35	5.01 ± 0.48	-	60.45 ± 20.25	35.72 ± 10.57	-
16.0	6.62 ± 0.16	6.46 ± 0.06	-	4.59 ± 0.39	5.01 ± 0.53	-	73.90 ± 28.68	35.68 ± 10.54	-
18.0	6.63 ± 0.17	6.48 ± 0.06	-	4.54 ± 0.39	5.07 ± 0.48	-	112.16 ± 49.15	38.47 ± 10.13	-
20.0	6.66 ± 0.15	6.49 ± 0.07	-	4.90 ± 0.36	5.10 ± 0.53	-	128.63 ± 50.52	49.48 ± 16.35	-
22.0	6.70 ± 0.17	6.53 ± 0.04	-	5.16 ± 0.41	5.04 ± 0.54	-	158.65 ± 60.65	56.32 ± 15.69	-
24.0	6.85 ± 0.17	6.57 ± 0.03	-	5.28 ± 0.45	5.22 ± 0.52	-	194.75 ± 71.82	57.69 ± 15.78	-

Tabelle 7. Vergleich der klinisch-chemischen Parameter, gemessen in der Konservierungsgruppe von Herzen, die anschließend erfolgreich ("GUT") bzw. erfolglos ("SCHLECHT") transplantiert worden waren. (Einheiten: K (mMol/l), Phosphat, Laktat (mg/100 ml), CPK, α - HBDH, GOT, GLDH (mU/ml))

α -HBDH		GOT				GLDH				LAKTAT			
SCHLECHT	GUT		SCHLECHT	GUT		SCHLECHT	GUT			SCHLECHT	GUT		
$\bar{x}$	$\bar{x}$	p<	$\bar{x}$	$\bar{x}$	p<	$\bar{x}$	$\bar{x}$	p<		$\bar{x}$	$\bar{x}$		
s $\bar{x}$	s $\bar{x}$	0.05	s $\bar{x}$	s $\bar{x}$	0.05	s $\bar{x}$	s $\bar{x}$	0.05		s $\bar{x}$	s $\bar{x}$		
0.00	0.00	-	0.00	0.00	-	0.00	0.00	-		0.52	0.94		
0.00 $\pm$ 0.00	0.00	-	0.00 $\pm$ 0.00	0.00	-	0.00 $\pm$ 0.00	0.00	-		0.02 $\pm$ 0.24			
0.00	0.00	-	1.68	1.68	-	0.00	0.00	-		1.93	1.56		
0.00 $\pm$ 0.00	0.00	-	0.38 $\pm$ 0.56	0.56	-	0.00 $\pm$ 0.00	0.00	-		0.27 $\pm$ 0.23			
0.00	0.00	-	2.62	1.68	-	0.00	0.00	-		2.62	1.91		
0.00 $\pm$ 0.00	0.00	-	0.75 $\pm$ 0.56	0.56	-	0.00 $\pm$ 0.00	0.00	-		0.54 $\pm$ 0.15			
3.33	3.33	-	2.91	3.54	-	0.00	0.00	-		3.54	1.95		
2.11 $\pm$ 2.11	2.11	-	1.00 $\pm$ 0.61	0.61	-	0.00 $\pm$ 0.00	0.00	-		0.74 $\pm$ 0.21			
3.33	6.67	-	3.29	5.04	-	0.00	0.00	-		3.92	2.14		
2.11 $\pm$ 2.11	2.11	-	1.10 $\pm$ 1.29	1.29	-	0.00 $\pm$ 0.00	0.00	-		0.95 $\pm$ 0.27			
3.33	8.23	-	4.11	5.70	-	0.07	0.13	-		5.17	2.15		
2.11 $\pm$ 2.99	2.99	-	1.60 $\pm$ 1.25	1.25	-	0.07 $\pm$ 0.08	0.08	-		1.82 $\pm$ 0.57			
4.85	8.08	-	4.95	6.26	-	0.07	0.20	-		4.81	2.51		
2.17 $\pm$ 2.98	2.98	-	1.35 $\pm$ 1.20	1.20	-	0.07 $\pm$ 0.09	0.09	-		1.37 $\pm$ 0.55			
4.85	18.08	-	6.52	7.01	-	0.07	0.20	-		4.34	2.24		
2.17 $\pm$ 2.98	2.98	-	1.33 $\pm$ 1.46	1.46	-	0.07 $\pm$ 0.09	0.09	-		1.86 $\pm$ 0.13			
9.68	17.77	-	6.52	8.69	-	0.13	0.27	-		5.88	2.00		
4.32 $\pm$ 1.62	1.62	-	1.33 $\pm$ 1.33	1.33	-	0.08 $\pm$ 0.08	0.08	-		2.48 $\pm$ 0.28			
2.91	17.77	-	7.14	9.53	-	0.13	0.30	-		8.08	1.76		
4.78 $\pm$ 1.62	1.62	-	1.21 $\pm$ 1.25	1.25	-	0.08 $\pm$ 0.08	0.08	-		2.87 $\pm$ 0.37			
4.51	17.77	-	7.78	11.02	-	0.27	0.40	-		9.09	2.16		
5.44 $\pm$ 1.62	1.62	-	1.39 $\pm$ 2.55	2.55	-	0.08 $\pm$ 0.00	0.00	-		2.95 $\pm$ 0.33			
7.76	24.24	-	8.23	11.58	-	0.27	0.50	-		8.91	1.94		
7.68 $\pm$ 4.85	4.85	-	1.03 $\pm$ 2.60	2.60	-	0.08 $\pm$ 0.10	0.10	-		2.49 $\pm$ 0.27			
1.01	29.09	-	9.01	12.71	-	0.33	0.60	-		10.17	2.11		
9.17 $\pm$ 6.13	6.13	-	1.43 $\pm$ 2.31	2.31	-	0.07 $\pm$ 0.10	0.10	-		2.48 $\pm$ 0.30			
5.85	29.09	-	9.81	14.20	-	0.33	0.60	-		9.32	2.02		
7.37 $\pm$ 6.13	6.13	-	1.55 $\pm$ 2.20	2.20	-	0.07 $\pm$ 0.10	0.10	-		2.88 $\pm$ 0.30			
5.85	32.29	-	11.40	17.01	-	0.43	0.73	-		10.38	1.93		
7.37 $\pm$ 8.52	8.52	-	1.88 $\pm$ 2.43	2.43	-	0.11 $\pm$ 0.10	0.10	-		2.50 $\pm$ 0.23			
8.93	32.29	-	12.58	17.19	-	0.47	0.80	-		15.35	1.74		
0.84 $\pm$ 8.52	8.52	-	2.50 $\pm$ 2.36	2.36	-	0.11 $\pm$ 0.14	0.14	-		3.08 $\pm$ 0.21			
3.93	37.17	-	16.43	19.06	-	0.60	0.83	-		15.99	1.82		
0.84 $\pm$ 8.46	8.46	-	5.22 $\pm$ 3.60	3.60	-	0.09 $\pm$ 0.14	0.14	-		3.05 $\pm$ 0.23			
0.39	37.17	-	19.50	19.06	-	1.03	0.86	-		14.97	1.87		
4.04 $\pm$ 8.46	8.46	-	6.52 $\pm$ 3.60	3.60	-	0.34 $\pm$ 0.14	0.14	-		3.00 $\pm$ 0.18			

Tabelle 7 (Forts.). Jede der beiden Gruppen umfaßt n = 6 Experimente. Angegeben sind die Mittelwerte $\bar{x}$ und die mittleren Fehler der Mittelwerte $s\bar{x}$. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (p < 0.05) sind durch "+", fehlende Signifikanz ist durch "-" gekennzeichnet.

4. DISKUSSION

4.1. PRINZIPIELLE ÜBERLEGUNGEN (1,44,91,94,117,118,163,165, 175,236,245,247,250)

Unter der Konservierung des Herzens soll seine intra- oder extrakorporale Aufbewahrung mit Hilfe künstlicher Systeme verstanden werden mit dem Ziel, seine Funktionsfähigkeit so zu erhalten, daß es nach Transplantation die Kreislaufarbeit bei einem Empfänger zu übernehmen imstande ist. Diese Erhaltung der Funktionsfähigkeit ist abhängig von der Integrität der physikochemischen Struktur der Zelle bzw. von der Reversibilität ihrer Veränderungen während der Konservierung. Irreversible Zellschäden treten insbes. als Folge gravierender Störungen im Energiestoffwechsel auf, die durch ein Mißverhältnis zwischen dem Bedarf des Organs an Sauerstoff und Substraten und dem entsprechenden Angebot zustandekommen.

Kritischer Parameter bei der Einstellung dieser Balance ist der Sauerstoff, da im Falle eines O₂-Minderangebots anaerobe Stoffwechselwege beschritten werden, deren Effizienz zur Synthese ausreichender Mengen energiereicher Substrate nicht genügt.

Um die Situation im Energiestoffwechsel des konservierten Herzens zu stabilisieren, lassen sich somit zwei Ansätze finden:

4.1.1. Die Bedarfsreduktion (linke Hälfte in Abb. 42)

Die Nachfrage nach Sauerstoff und Substraten ist am größten beim schlagenden Herzen in Normothermie, da hier den Forderungen sowohl des Arbeits- als auch des Erhaltungsstoffwechsels Rechnung getragen werden muß.

Eine Stilllegung des Arbeitsstoffwechsels läßt sich erzielen, wenn man die Kontraktionstätigkeit des Herzens unterbindet. Man kann folgende Formen einer Induzierung des Herzstillstandes unterscheiden (SPIECKERMANN (217)):

- a) Herzstillstand durch Eingriffe in den Elektrolythaushalt durch Erhöhung der extrazellulären Kaliumkonzentration (MELLORSE, 1955 (150)), Erniedrigung der extrazellulären Kalziumkonzentration (MINES, 1913 (156), PENPARQKUL u. SCHEUER, 1969 (170)), Erhöhung des extrazellulären Magnesiumspiegels (MATTHEW u. JACKSON, 1907 (146), WEBB et al., 1968 (244,245), KIRSCH, 1971 (105), MENDLER et al., 1971 (152)) sowie durch Natriumentzug (BRETSCHNEIDER, 1964 (33), KÜBLER, 1967 (111), SØNDERGAARD u. SENN, 1967 (215)).
- b) Pharmakologisch induzierter Herzstillstand durch Lokal-anästhetika (BRETSCHNEIDER 1964 (33), u.a.) oder Acetylcholin (FRÖHLICHER 1945 (71), LAM et al. 1955 (113)).
- c) Ischämischer Herzstillstand. Das durch Abklemmung der Aorta bzw. Eröffnung des Bulbus aortae ischämisch gemachte Herz durchläuft folgende Phasen (217):
- ein störungsfreies Intervall von einigen Sekunden, während dessen erkennbare Funktionsstörungen ausbleiben, da der im Myokard gelöste und chemisch gebundene Sauerstoff ein Energiedefizit verhindert. Ist diese O_2 -Reserve aufgebraucht und der myokardiale Sauerstoffdruck unter 5 mm Hg abgesunken, beginnt
 - die Phase der abnehmenden Funktion (Funktionserhaltungszeit. Während dieser Phase wird die Herzfunktion zunehmend insuffizient. Die Funktionserhaltungszeit beträgt für das Herz in situ etwa 2 Minuten, für das isolierte Hundenerz 7-10 Minuten (SPIECKERMANN (217), SEBENING et al. (204), ISSELHARD et al. (93)). Nach Verstreichen der Funktionserhaltungszeit steht das ischämische Myokard (häufig nach einer transitorischen Flimmerphase) still. Durch O_2 -Zufuhr kann es jedoch noch nach einer gewissen Zeit,
 - der Wiederbelebenszeit, wieder zum Schlagen gebracht werden.
- Während der normothermen Ischämie kann die ATP-Bildung mit dem Verbrauch nicht mehr Schritt halten. Es kommt

zu einem Abfall des Phosphokreatins, aus dem zunächst das ATP nachgebildet wird, dann auch zu einem ATP-Abfall. Durch den stark gesteigerten anaeroben Stoffwechsel kann das Energiedefizit nicht ausgeglichen werden und die Metabolite der Glykolyse (Milchsäure, Glycerin-1-Phosphat, Hexosemonophosphat) stauen sich an (SEBENING (205)). SEBENING fand nach 15-minütiger Anoxie des Hundeherzens während extrakorporaler Zirkulation einen ATP-Abfall auf 78 %, nach 30 Minuten auf 59 % des Ausgangswerts. Nach BRETSCHNEIDER (33) ist eine Wiederbelebung des Herzens noch bei einem ATP-Abfall auf 75 % möglich. Aus diesen Daten erhellt, daß Ischämie in Normothermie keinesfalls über einen Zeitraum von 30 Minuten ausgedehnt werden sollte. Die eigentlich nutzbare Ischämiedauer ist auf 10-15 Minuten begrenzt (COOLEY et al. (49), BRETSCHNEIDER (32), SCHAUDIG u. BORST (201)). Anoxische Aufbewahrung in Normothermie kommt somit als Konservierungsprinzip nicht in Frage.

Durch Anwendung von Hypothermie läßt sich eine Senkung sowohl des Arbeits- als auch des Erhaltungsstoffwechsels herbeiführen: Das Herz flimmert bei Unterschreitung einer Temperatur von 25°C (231), wobei mit abnehmender Temperatur die Flimmerfrequenz kleiner wird. Gleichzeitig sinkt der O₂-Bedarf pro 10°C Temperaturabsenkung auf die Hälfte bis auf ein Drittel, entsprechend einem Q₁₀ des Herzens von 2-3 (72). Damit wird auch der ATP-Abfall im anoxischen Herzen in Hypothermie geringer: SEBENING (205) beobachtete nach 30-minütiger Ischämie des Hundeherzens einen ATP-Abfall auf 75 % im Gegensatz zu 59 % in Normothermie.

Die Möglichkeit, durch Anwendung von entsprechend tiefen Temperaturen den myokardialen Stoffwechsel sehr stark zu drosseln, hat die Hypothermie zu einem integralen Bestandteil der meisten Konservierungsverfahren werden lassen.

Den Extremfall der Hypothermie stellt die Abkühlung des Organs auf Temperaturen unter 0°C bei gleichzeitiger

Anwendung von Gefrierpunkts erniedrigern dar (sog. Supercooling). Hier sistiert der Stoffwechsel weitgehend. Ein praktisch vollständiger Stoffwechselstillstand wird durch das Gefrieren erreicht.

Neben der Hypothermie kennt man als Prinzip der Bedarfsreduktion noch die metabolische Inhibition durch pharmakologisch induzierte, reversible Hemmung des Stoffwechsels. Als Substanzen hierfür kommen u.a. Phenothiazine, Acetylcholin, Adenochrom, Magnesiumsulfat und Natriumfluorid infrage.

4.1.2. Die Angebotserhöhung (rechte Hälfte in Abb. 42)

Das Angebot an Sauerstoff kann durch Anwendung von Sauerstoffüberdruck vergrößert werden, wobei die zurückzulegenden Diffusionsstrecken sehr groß sind, sowie durch Perfusion, wobei der Sauerstofftransport zunächst konvektiv erfolgt. Dies hat den Vorteil wesentlich geringerer Diffusionsstrecken. Außerdem eröffnet die Perfusion die Möglichkeit, mit dem Perfusionsmedium der Myokardzelle neben dem Sauerstoff Substrate zuzuführen.

Die Sauerstofftransportkapazität ist bei Perfusion mit asanguinen, wäßrigen Perfusaten am geringsten, da hier nur physikalische Lösung vorliegt, bei Perfusion mit Blut am größten, da der Sauerstoff hier physikalisch gelöst und chemisch gebunden ist. Eine Mittelstellung zwischen beiden nehmen Stoffe wie das Fluorocarbon ein, deren physikalische Sauerstofflöslichkeit außerordentlich hoch ist.

Abb. 42 zeigt bisher in der Literatur beschriebene Kombinationen aus den eben beschriebenen Prinzipien zur Bedarfsreduktion und Angebotserhöhung, sowie die Nachteile, die diese bieten. Die einzelnen Verfahren werden in 4.2.eingehender referiert.

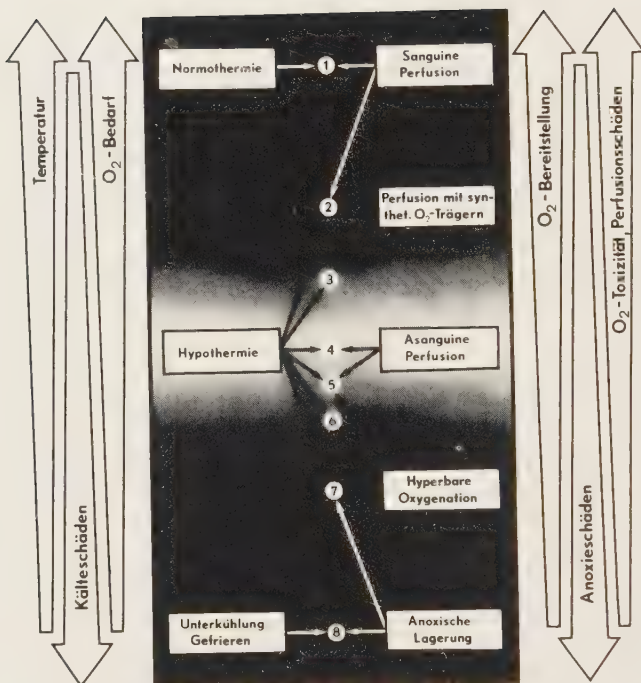


Abb. 42. Prinzipielle Möglichkeiten der Organ-konservierung

Im einzelnen wird beschrieben :

Kombination Nr. in Abschnitt Nr.

1 und 2 4.2.1.

3 und 4 4.2.2.

5 und 6 4.2.5.

7 4.2.3.

8 4.2.4.

4.2. DER DERZEITIGE STAND DER HERZKONSERVIERUNG

4.2.1. Konservierung durch sanguine Perfusion in Normo- und Hypothermie

4.2.1.1. Intrakorporale Konservierung

Dernächstliegende Gedanke bei der Konzipierung eines Konservierungssystems ist der, daß Schäden am Organ am geringsten sein dürften, wenn es gelänge, ihm während der Konservierung die gewohnten physiologischen Bedingungen zu erhalten.

MARCHIORO (1963 (143)) inaugurierte die Methode, Organe Verstorbener (Nieren und Leber) dadurch verfügbar zu halten, daß er den Kreislauf im Spenderorganismus durch eine Herz-Lungen-Maschine aufrechterhielt.

Andere Autoren bedienten sich zur intrakorporalen Organkonservierung eines mechanischen Ventrikel-Assistors. Dazu verwendeten sie eine um die Ventrikel in situ gestülpte Druck-Saugglocke, die das flimmernde Herz im Sinne einer intrathorakalen Massage rhythmisch komprimiert (ANSTADT et al. 1966 (9), ATTAI et al. 1968 (12), BAUE et al. 1968 (20), SKINNER et al. 1970 (212)).

Die Möglichkeit, das Herz in situ mit Hilfe einer Herz-Lungen-Maschine zu konservieren wurde von BARNARD (1968 (15)) realisiert. Das venöse Blut des beim Spender in situ isolierten Herzens wurde bei diesem Verfahren aus dem rechten Vorhof abgepumpt und nach Oxygenierung über einen im Arcus aortae fixierten Katheter wieder zur Koronarperfusion verwendet. Eine Drucküberlastung des linken Ventrikels wurde durch entsprechende Drainage verhindert.

PARULKAR (1968 (168)) untersuchte die Möglichkeit, Spenderherzen zu unterschiedlichen Zeiten nach Eintritt des Todes durch EKZ ohne Thorakotomie wiederzubeleben und zu konservieren: Hunde wurden durch Anoxie, Fibrillation oder Entbluten getötet. 20 - 90 Minuten nach Eintreten des klinischen Todes - festgestellt durch Nulllinien-EEG, Fibrilla-

tions- oder Asystoliezeichen im EKG und Aortendruckwerte von 0 mm Hg - wurde die EKZ über periphere Kanülen eingeleitet. Der venöse Abfluß erfolgte dabei über einen durch die V. iugularis dextra in die V. cava superior vorgeschobenen Katheter, der arterielle Rückfluß über die rechte Karotide. Aorta descendens und V. cava inferior waren abgeklemmt, so daß nur die obere Körperhälfte perfundiert wurde. Während der EKZ erfolgte Beatmung mit einem Luft/O₂-Gemisch bei einer Frequenz von 12/min. Externe Herzmassage wurde mit einem eigens hierfür konzipierten Gerät durchgeführt, bis sich anhand von EKG- und Aortendruckregistrierung Defibrillation und suffiziente Schlagtätigkeit nachweisen ließen. Defibrillierte das Herz nicht, wurde die externe Herzmassage während der gesamten zweistündigen Konservierungsperiode beibehalten. Im Anschluß daran wurde das Herz entnommen und durch zervikale Transplantation auf seine Funktionstüchtigkeit hin untersucht. 37 von 40 transplantierten Herzen nahmen wieder ihre Schlagtätigkeit auf, 21 davon für 120 Stunden und mehr. In dem referierten System einer intrakorporalen Konservierung betrug die maximale Aufbewahrungsdauer nur 2 Stunden, was für die in 1. genannten Ziele wesentlich zu wenig ist. Weiterhin erlaubt die zervikale Transplantation keine schlüssigen Aussagen über die Leistungsfähigkeit des Myokards, da das Herz nur im Nebenschluß schlägt und hämodynamisch nicht belastet wird. Als entscheidende prinzipielle Nachteile der intrakorporalen Konservierung sind zusätzlich hervorzuheben:

- Die Situation ist unübersichtlich und die Zahl der möglichen Störfaktoren groß, bedingt durch die Tatsache, daß auch von anderen Organen wie Nieren, Leber, Lungen etc. Rückwirkungen auf das Herz zu besorgen sind.
- Das Verfahren ist umständlich, insbesondere ließe sich der Transport des Spenderorgans zum Empfänger nur unter schwierigsten Bedingungen durchführen.
- Die Anonymität des Spenderorgans - eine wesentliche ethische Forderung - wäre praktisch nicht mehr zu gewährleisten.

4.2.1.2. Hämoperfusion des isolierten Herzens in Normo- thermie

Das älteste Perfusionsverfahren bei isolierten Herzen von Warmblütern stammt von LANGENDORFF (1895 (114)). Er verwendete Katzen, Kaninchen und Hunde, die er durch arterielles Entbluten tötete. Das so gewonnene Blut defibrinierte er, filterte es durch Glaswolle und wärmte es. Nach dem Tod des Blutspenders entnahm er diesem das Herz und band in die Aorta ascendens eine in Richtung der Semilunarklappen weisende Kanüle ein. Mit Hilfe eines von ihm konstruierten Perfusionssystems konnte er über diese Kanüle die Koronarien mit dem vorher gewonnenen Blut bei konstantem Perfusionsdruck und konstanter Temperatur im normothermen Bereich perfundieren, und an dem so wieder zum Schlagen gebrachten Herzen Studien über die Herkunft der Herztöne, den Einfluß der Vagusreizung, über die Wirkungen von Muscarin, Atropin und Kaliumionen, über die elektrische Reizung des Herzens und Anoxieeinflüsse (114) sowie über Temperatureffekte (1897 (115)) durchführen.

Beim LANGENDORFF'schen Perfusionssystem handelt es sich nicht eigentlich um einen Kreislauf, da das venöse, abfließende Blut in einer Schale aufgefangen, durch Schütteln arterialisiert und dann wieder zum arteriellen Reservoir zurückgegossen werden mußte.

LEVY et al. (1965 (122)) benutzten ein geschlossenes System, bei dem die Koronarien über die Aortenwurzel mit Hilfe einer Rollerpumpe mit verdünntem Blut perfundiert wurden. Das venöse Blut wurde aus der A. pulmonalis dextra abgeleitet und in einem Schaumoxygenator arterialisiert. Die isolierte Herzpräparation war auf 34-38°C thermostatisiert. Die Herzen schlugen bis zu 11 Stunden lang. Allerdings zeigten sich während der Beobachtungsdauer deutliche Schwankungen im Koronarwiderstand, was mit HOLLENBERG et al. (90) durch die Freisetzung von Histamin und Serotonin als Vasodilatoren durch den langdauernden Gebrauch des Schaumoxygenators zu erklären sein mag. Als weiterer be-

kannter Nachteil solcher Oxygenatoren muß die beachtliche Bluttraumatisierung hervorgehoben werden.

KOGA et al. (1968 (107)) verwandten ebenfalls ein geschlossenes System und benutzten einen Scheibenoxxygenator. Die Perfusion erfolgte mit Vollblut oder auf 20 - 26 % Hct diluiertem Blut, das mit einem Wärmeaustauscher in Normothermie gehalten wurde. Wiederaufnahme der Schlagtätigkeit konnte in jedem Fall erzielt werden. Die schlechtesten Ergebnisse wurden bei Perfusion mit Vollblut erzielt: Die Präparation konnte 3-5 Stunden aufrechterhalten werden, erfolgreiche Transplantationen der so konservierten Herzen waren nicht möglich. Die besten Ergebnisse zeigten sich bei diluiertem, filtriertem Blut, wobei die Konservierungszeit 10 - 15 Stunden betrug und die Überlebenszeit nach orthotoper Transplantation 2 Stunden bis 7 Tage.

Im Gegensatz zu den bisher aufgeführten Modellen benutzten FOURCADE et al. (1968 (68)) nicht eine kontinuierliche Perfusion, sondern eine pulsatile, wobei die Perfusionspulse über das EKG des isolierten Herzens so angesteuert wurden, daß sie in die Diastole fielen. Da in Diastole der koronare Widerstand wesentlich geringer ist, genügten in dieser Konzeption Perfusionsdrucke zwischen 20 und 40 mm Hg. Die Herzen wurden über 5 Stunden hinweg normotherm konserviert.

1969 berichteten VISHNEVSKY und PORTNOY (238) über ein System zur apulsatilen Perfusion, wobei das Blut über die Aortenwurzel in die Koronarien gelangte, das koronarvenöse Blut und das evtl. durch die Semilunarklappe in den linken Ventrikel gelangte Blut durch Katheter im rechten Vorhof und im linken Ventrikel zu einem Oxygenator abgeleitet und von dort mit einer Rollerpumpe zu einem arteriellen Reservoir transportiert wurde. Mit diesem einfachen System wurde ein menschliches Herz 7 Stunden lang konserviert und dann transplantiert. Die Empfängerin starb 33 Stunden danach an Rechtsherzinsuffizienz.

Während in den bisher angegebenen Verfahren die Herzen leer schlugen, wurde von BAILEY et al. (1970 (13)) ein Verfah-

ren referiert, bei dem das Herz Volumenarbeit leistet. Das vom linken Ventrikel in die Aorta ausgeworfene Volumen gelangt einerseits in die Koronarien und andererseits über einen in den Truncus brachiocephalicus eingebundenen Katheter (A. subclavia sin. und Aorta descendens sind ligiert) in einen Schaumoxygenator. Das koronarvenöse Blut strömt bei ligierten Hohlvenen vom rechten Vorhof in den rechten Ventrikel und in die A. pulmonalis, von dort in ein venöses Reservoir. Aus diesem wird das Blut mit einer Rollerpumpe ebenfalls dem Oxygenator zugeführt. Das arterialisierte Blut gelangt in ein arterielles Reservoir und von dort durch Schwerkraft über einen Wärmeaustauscher, der Thermostase bei 37°C garantiert, zurück in den linken Vorhof. Das linksventrikuläre Auswurfvolumen kann durch die Höhe des arteriellen Reservoirs eingestellt werden. Diese Präparation wurde bis zu acht Stunden aufrechterhalten, nach Konservierung wurde transplantiert. Über den Ausgang der Transplantationen wurde nicht berichtet.

4.2.1.3. Hämoperfusion des isolierten Herzens in Hypothermie

PITZELE u. DOBELL (1968 (174)) gaben ein System an, in dem das Herz über acht Stunden hinweg durch apulsatile Perfusion mit Blut von 30°C in vitro schlagend erhalten wurde. An die Konservierungsphase schloß sich eine Erholungsphase in Normothermie von 30 bis 45 Minuten an. Die Herzen waren während der Konservierung belastet durch entsprechende Einstellung eines Füllungsdrucks innerhalb eines "Arbeitsbelastungskreislaufs", der neben dem "Koronarversorgungskreislauf" bestand. Nach achtstündiger Konservierung und Wiedererwärmung wurden die Herzen in einem parabiologischen Kreislauf auf ihre Funktionstüchtigkeit hin getestet. Der Vergleich der hämodynamischen Parameter bei der Testung der konservierten Herzen mit der Kontrollgruppe zeigte, daß die Werte der Kontrollgruppe nicht ganz zu erreichen waren. Zudem zeigten die hypotherm perfundierten Herzen nach Wie-

dererwärmung einen größeren Verbrauch an Sauerstoff, Glukose und nicht veresterten Fettsäuren. Die Laktatutilisation war bei den konservierten Herzen geringer, Pyruvat wurde nicht genutzt, sondern vielmehr produziert.

In einer weiteren Untersuchung studierten PITZELE et al. (1971 (177)) die Möglichkeit, das isoliert perfundierte Herz noch stärker zu kühlen, nämlich auf 20°C . Als Vergleichskollektive dienten Herzen, die bei $28,5 - 30,5^{\circ}\text{C}$ konserviert worden waren, und solche, die nicht konserviert worden waren. Wieder betrug die Konservierungsdauer acht Stunden und die normotherme Erholungsphase 30 - 45 Minuten. Die bei 20°C perfundierten Hundeherzen zeigten während der Konservierungsphase eine chinidinresistente Flimmerbereitschaft. Die Untersuchung hämodynamischer Parameter wie Minutenvolumen und Aortendruck sowie der bereits genannten biochemischen Parameter bestätigte in verstärktem Maße die bereits in (174) sich ergebende Tendenz.

Insgesamt wird man sagen müssen, daß der Vorteil der Hypothermie, der geringere Sauerstoffverbrauch, aufgewogen wird durch zwei wesentliche Nachteile der hypothermen Hämoperfusion (91):

- Die Viskosität und die Neigung zur Bildung von Erythrozytenaggregaten wird in Hypothermie größer.
- Die Affinität des Hämoglobins zum Sauerstoff erhöht sich mit sinkender Temperatur, d.h. die O_2 -Bindungskurve verschiebt sich nach links. Somit wird die Sauerstoffabgabe aber auch die CO_2 -Abfuhr beim Gewebe unzureichend.

Sowohl der normo- als auch der hypothermen Hämoperfusion des isolierten Herzens wird als Nachteil angerechnet werden müssen, daß die Notwendigkeit einer Anwendung von künstlichen Oxygenatoren eine progrediente Bluttraumatisierung mit sich bringt. Letztere kann stark vermindert werden durch die Anwendung von Membranoxygenatoren (PITZELE et al. (174,177)), doch bleibt auch in diesem Fall das Problem einer Verminderung des Koronarwiderstands mit konsekutiver Erhöhung des Koronarflusses bei gleich-

zeitiger Verschlechterung der Ventrikelperformance bestehen, wie MONROE et al. (158) bei vergleichenden Untersuchungen an isolierten Herzpräparationen sahen, bei denen die Oxygenierung entweder mit isolierten Lungen oder mit Membranoxygenatoren erfolgte.

Angesichts dieser Problematik erscheint es wünschenswert, bei der isolierten Herzpräparation auf die physiologische Oxygenierung durch die Lunge zurückzukommen. Hierfür bieten sich zwei Möglichkeiten:

- die Verwendung der Lunge des Spenders, d.h. die Konservierung eines Herz-Lungen-Präparats, oder
- der Einsatz eines Zwischenwirts, der dem zu konservierenden Herzen arterielles Blut zur Koronarperfusion zur Verfügung stellt, das koronarvenöse Blut zurückerhält und in seinen Lungen aufoxygeniert.

4.2.1.4. Die Herz-Lungen-Präparation

STARLING (1915 (219)) hat zur Untersuchung der Herzmechanik unter definierten Bedingungen folgende Herz-Lungen-Präparation angegeben: Der linke Ventrikel des schlagenden Herzens treibt sein Volumen in ein Schlauchsystem aus, in welches ein künstlicher Windkessel und ein Resistor zur Simulation des peripheren Kreislaufs in Serie geschaltet sind. Das Blut gelangt in ein venöses Reservoir und von dort zurück in den rechten Vorhof. Durch Einstellung der Höhe des venösen Reservoirs kann der venöse Zufluß und damit das enddiastolische Volumen variiert werden. Das Blut gelangt in den rechten Ventrikel und wird von diesem durch die Lungen gepumpt (vgl. Abb. 43, oben). Die Lebensdauer dieses Präparats war allerdings recht beschränkt: Durch das nach vier Stunden eintretende Lungenödem wurde die Oxygenierung des Bluts insuffizient, nach sechs Stunden sistierte die Herzfunktion.

1956 untersuchten SEN et al. (208) eine vereinfachte Form des STARLING'schen Präparats, bei dem nicht der große Kreislauf imitiert wurde, sondern der linke Ventrikel

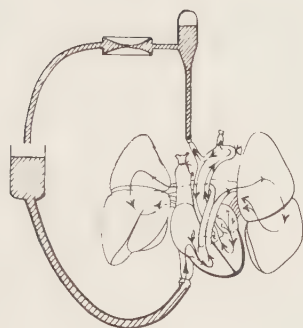
lediglich die Koronarien zu versorgen hatte (vgl. Abb. 43, Mitte). Er wandte dabei Hypothermie bei 26°C an. Die Überlebenszeit dieser Präparationen lag zwischen 9 und 60 Minuten, wobei eine effektive Herzaktion im Durchschnitt nur für 10 Minuten zu beobachten war.

DEMIKHOV (1962 (54)) transplantierte diese vereinfachte STARLING'sche Präparation, ohne dabei jedoch eine längere extrakorporale Aufbewahrung des Organs zu versuchen. Es bestand die Schwierigkeit, das in der Präparation belassene Blutvolumen so zu wählen, daß es nicht, weil es zu klein war, durch einen ungenügenden koronararteriellen Druck zum anoxischen Stillstand führte, auf der anderen Seite aber nicht, weil es zu groß war, durch exzessiv hohe Drucke zu diffusen Blutungen aus dem Koronarsystem kam.

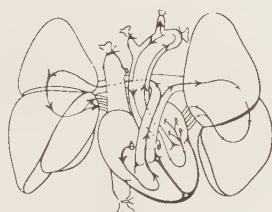
ROBICSEK et al. (1963 (195), 1967 (196), 1968 (197)) ergänzten die DEMIKHOV'sche Präparation durch einen Windkessel (vgl. Abb. 43, unten). 1963 (195) wurde von einer mittleren Überlebenszeit von 11 Stunden und 8 Minuten berichtet. Nach sechs bis acht Stunden zeigten sich progressive Veränderungen an der Lunge wie Ödem und Atelektasen. Waren diese Veränderungen weit fortgeschritten, ging das Herz in Fibrillation über.

YAMADA et al. (1965 (252)) versuchten die Alterationen besonders an der Lunge, aber auch an den Erythrozyten und den Herzzellen zu vermindern, indem sie dem zirkulierenden Blutvolumen alle 4 Stunden 4 mg Dexamethason zufügten. Bei dieser Behandlung konnte die Lebensdauer der Präparation auf 15 - 24 Stunden ausgedehnt werden. Elektrolyt- und Enzymveränderungen sowie die Bluttraumatisierung waren deutlich geringer als bei der unbehandelten Kontrollgruppe. Diese hatte eine Überlebenszeit von 8-10 Stunden. Die histologischen Veränderungen bei der Dexamethason-Gruppe waren nicht so gravierend und traten später auf. Aus diesen Befunden wurde auf eine Stabilisierung der Zellmembran durch Dexamethason geschlossen.

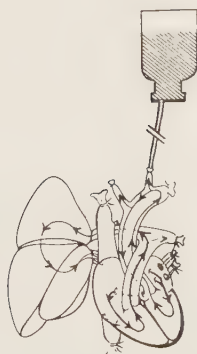
1968 berichteten ROBICSEK et al. (197) über ein Versuchsgut von 86 der geschilderten Herz-Lungen-Präparationen,



STARLING 1918



SEN 1956
DEMIKHOV 1962



ROBICSEK 1963

Abb. 43. Die wichtigsten Typen von Herz-Lungen-
Präparationen

wobei eine Lebensdauer von $1/2$ bis $26 \frac{3}{4}$ Stunden in vitro erreicht wurde. Von 62 Präparationen, die zwischen einer und zwölf Stunden konserviert worden waren, wurden 14 in zervikaler und 29 in thorakaler Position heterotop und

19 orthotop transplantiert. Von den zervikal transplantierten Herzen schlugen 14, von den thorakal transplantierten 18 und von den orthotop transplantierten 13 länger als sechs Stunden.

Während in den bisher zitierten Studien die Herz-Lungen-Präparationen bei schlagendem Herzen aus dem Spender entnommen worden waren, versuchten LIOTTA et al. (1968 (126)) mit Erfolg, Herzen nach 30 bis 45 Minuten Stillstand mit einer Herz-Lungen-Maschine wiederzubeleben und sie dann durch Abklemmen von Aorta und Vv. cavae in eine Herz-Lungen-Präparation nach DEMIKHOV (54) umzuwandeln, in der die Schlagtätigkeit des Herzens nur für die Koronardurchblutung genutzt wird. Diese Präparationen bestanden 2-4 Stunden. Mit einer ähnlichen Technik belebten TAM, ROBICSEK u. DAUGHERTY (1969 (229)) Herz-Lungen-Präparate wieder, die von Spendern stammten, deren Tod 30 bis 90 Minuten zurücklag. Nach Wiederbelebung erfolgte Umwandlung in Präparationen nach ROBICSEK. Die längste durchschnittliche Überlebensdauer betrug dabei (für die Herzen mit der kürzesten Anoxiezeit) 7 Stunden und 10 Minuten.

1969 untersuchten DiPAOLA et al. (57) vergleichend Herz-Lungen-Präparationen nach STARLING, DEMIKHOV und ROBICSEK. Sie stellten dabei fest, daß die Präparationen nach STARLING und ROBICSEK weitaus größere Überlebenszeiten aufwiesen als die nach DEMIKHOV, wobei der Präparation nach ROBICSEK noch der Vorteil der einfacheren Handhabung gegenüber der STARLING'schen nachgesagt wurde.

Eine entscheidende Verlängerung der Überlebensdauer von Herz-Lungen-Präparationen brachte die 1971 von TAM, ROBICSEK et al. (230) beschriebene Modifikation mit sich, bei der aus dem linken Ventrikel das Blut nicht nur in einen Windkessel abgegeben wurde, sondern auch in die Femoralvene eines als Zwischenwirt fungierenden Hundes. Blut aus der A. femoralis desselben Tiers wurde in ein Reservoir geleitet, das den Druck im rechten Vorhof stabilisieren sollte. Durch diese Anordnung wurde eine perma-

nente Reinigung des Bluts innerhalb der Präparation erzielt, womit eine maximale Überlebenszeit von 42 Stunden bei einem Durchschnitt von 23 Stunden 43 Minuten erreicht wurde. Die Autoren nahmen an, daß durch die Reinigung im Zwischenwirt ein nicht näher bekannter, toxischer Stoff entfernt bzw. ein lebenswichtiger Stoff hinzugefügt wird. DIETHRICH, LIDDICOAT und DeBAKEY entwickelten eine kompakte Einheit, um Herz-Lungen-Präparationen nach DEMIKHOV steril aufzubewahren und zu transplantieren (1968 (55), 1970 (56,123)). In einer ausführlichen Untersuchung (SORDAHL, LIDDICOAT, DIETHRICH et al. 1970 (216)) wurde festgestellt, daß Mitochondrien, die aus Herzen isoliert wurden, welche in der o.g. Einheit konserviert worden waren, eine normale oxydative Phosphorylierung aufwiesen. Elektronenmikroskopische Untersuchungen der konservierten Organe ergaben ein weitgehend normales Erscheinungsbild der Organellen. 1974 (124) berichtete LIDDICOAT von Transplantationen von Herzen, die in dieser Einheit 13 Stunden konserviert worden waren. In einem berichteten Fall ergab sich eine Überlebenszeit des Empfängers von 7 Stunden. WILDEVUUR et al. (1971 (249)) versuchten das Verfahren zu vereinfachen, indem sie unter Anwendung der Präparation nach ROBICSEK die Beatmung der isolierten Lungen nicht wie andere Autoren mit einem Respirator vornahmen, sondern durch kontinuierliche Persufflation der Lungen mit einem Druck von 10 cm H₂O. Dies führte allerdings in einigen Fällen zu progressivem Lungenödem. Die Präparationen überlebten im Durchschnitt acht Stunden. Transplantationen so konservierter Herzen wurden nicht berichtet. Die vorstehend beschriebenen Herz-Lungen-Präparationen haben folgende Nachteile gemeinsam (252):

- Die unphysiologische hämodynamische Situation, wobei der linke Ventrikel nur soviel Blut auswirft, als für die Koronardurchblutung erforderlich ist (ca. 150-200 ml/min)
- Die unterbrochene Eigenversorgung der Lunge mit Blut über die vasa privata. Im Lungengewebe kann sich daraus

eine schädliche Konzentration von Stoffwechselendprodukten ergeben.

- Der unterbrochene Lymphabfluß. Diese Noxe konnte YAMADA (252) verifizieren, indem er Farbstoff subpleural injizierte und feststellte, daß er sich in den Bronchi abgelagert hatte.
- Die Bluttraumatisierung. Sie war in der Mehrzahl der Experimente noch beträchtlich, obwohl gerade ein Vorteil der Herz-Lungen-Präparation darin zu sehen sein sollte, daß die Oxygenierung des Bluts auf eine physiologische Weise erfolgt.

4.2.1.5. Die Konservierung mit Hilfe von Zwischenwirten

Die Schwierigkeiten, die sich bei der Herz-Lungen-Präparation ergeben - Bluttraumatisierung, Anhäufung von Stoffwechselendprodukten, Störungen der Elektrolytbilanz - ließen sich möglicherweise damit lösen, daß man einen intakten Organismus die Funktionen der Oxygenierung, des Abbaus bzw. der Ausscheidung der Stoffwechselendprodukte, der Elektrolytbilanzierung etc. überläßt. Hierfür sind bisher zwei Prinzipien angewendet worden:

4.2.1.5.1. Die parabiologische Perfusion

Hierbei wird eine Arterie (A. femoralis, A. carotis) eines Spendertiers mit der Aorta des zu konservierenden Herzens verbunden. Bei geschlossener Aortenklappe perfundiert das arterielle Spenderblut die Koronarien. Das aus dem Sinus coronarius strömende, venöse Blut wird dem Spender über eine Vene (V. femoralis, V. iugularis) zurückgegeben (vgl. auch 2.2.3.).

Dieses Prinzip wurde zum ersten Male von BARCROFT u. DIXON (1907 (14)) zur Untersuchung der Blutgase am isolierten Herzen angewendet.

MARCUS et al. (1953 (144)) benutzten das Prinzip der parabiologischen Perfusion, um die Versorgung von Herzen während heterotoper Transplantation zu gewährleisten.

ANGELL et al. (1968 (6)) benutzten für kurzzeitige Konser-

vierung (4 - 6 n) einen parabiotischen Kreislauf, der an die Halsgefäße (A. carotis, V. iugularis) angeschlossen war. 1968 berichteten ANGELL et al. (7) über erfolgreiche orthotop Transplantationen nach viertägiger Konservierung im parabiotischen Kreislauf.

4.2.1.5.2. Die heterotop Transplantation

Die am häufigsten beschriebene Form der heterotop Transplantation ist die in zervikaler Position. Hierbei wird die Durchblutung der Koronarien dadurch ermöglicht, daß eine Anastomose zwischen der Aorta bzw. einem der ersten Aortenastgeße des Spenderherzens und dem proximalen oder distalen Stumpf der Carotis des Empfängers geschaffen wird. Bei Anastomose mit dem proximalen Stumpf erfolgt Koronardurchblutung bei Systemdruck des Empfängers, bei Anastomose mit dem distalen Stumpf mit einem geringeren Druck von 40 - 60 mm Hg (MANAX et al. 1965 (138)).

Soll der linke Ventrikel belastet werden, kann die Carotis des Empfängers auch mit dem linken Vorhof des Spenderherzens anastomosiert werden (MARCUS et al. (144)).

Der koronaren Abfluß erfolgt in allen Fällen in die V. iugularis.

ANGELL et al. (1966 (5)), transplantierten Hundeherzen in die zervikale Position, beließen sie dort 24 Stunden und transplantierten sie dann orthotop. In 40 % der Fälle nahmen die Herzen die Kreislaufast auf und arbeiteten bis zu 21 Stunden. 1968 berichtete dieselbe Gruppe (6,7) von erfolgreichen orthotop Transplantationen nach 3-4 - tägiger Konservierung frisch entnommener Herzen bei einem Zwischenwirt in zervikaler Position.

Die heterotop Transplantation in abdomineller Position verwandten DUPREE et al. (1969 (60)) zur Konservierung von Affenherzen. Sie anastomosierten dabei die Aorta des Spenderherzens mit der Aorta abdominalis des Empfängers und entsprechend die A. pulmonalis mit der V. cava inf.. Die Herzspitze kam im rechten unteren Quadranten zu liegen. Von sieben so transplantierten Herzen überlebten drei für

eine Dauer von 3, 7 bzw. 16 Tagen. An weiteren zwei Herzen wurde die Möglichkeit der Immunsuppression durch Ganzkörperbestrahlung untersucht. Orthotope Transplantationen so aufbewahrter Herzen wurden nicht unternommen.

WELLS et al. (1971 (248)) transplantierten Ziegenherzen auf dieselbe Weise und erzielten Überlebensraten von mehreren Wochen. Allerdings wurde auch hier keine orthotope Transplantation unternommen.

Der Umfang und die Kompliziertheit der chirurgischen Maßnahmen, die praktische Unmöglichkeit, menschlichen "Zwischenwirlen" Eingriffe wie die hier zum Zwecke der Organkonservierung erforderlichen zuzumuten, sowie der Umstand, daß die immunologischen Probleme durch das Hinzukommen des Zwischenwirts noch vermehrt werden, zeigen deutlich, daß parabiologische Perfusion und heterotope Transplantation als Konservierungsverfahren praktisch-klinische Bedeutung nicht erlangen können. Auch eine Vorleistung von Herzen vor orthotoper Transplantation, wie sie von ANGELL et al. (1969 (8)) vorgeschlagen wurde, erscheint unter diesem Gesichtspunkt fragwürdig.

Die Bedeutung der parabiologischen Perfusion und der heterotopen Transplantation dürfte wohl eher in der Möglichkeit zu sehen sein, daß mit diesen Techniken im Tierversuch immunologische und hämodynamische Problemstellungen untersucht werden können.

4.2.2. Konservierung durch Perfusion mit erythrozytenfreien

Medien in Hypothermie

Zu den wesentlichsten Problemen bei allen praktikablen Verfahren zur Konservierung von Spenderherzen durch Hämo-perfusion gehört die hohe Hämolyserate, bedingt durch mechanische Pumpen und Oxygenatoren. Die Konsequenz aus dieser Schwierigkeit besteht in der Entfernung der Erythrozyten aus dem Blut, mithin in der Verwendung von Plasma. Da in Abwesenheit von Erythrozyten die Sauerstoffbindung nur

physikalisch erfolgen kann, muß bei Anwendung erythrozytenfreier Perfusate das Organ in der Regel gekühlt werden. Dadurch wird der Sauerstoffbedarf gesenkt und gleichzeitig die Sauerstofflöslichkeit im Perfusat erhöht.

Die entscheidenden Erfahrungen mit der Organperfusion mit Plasma wurden von BELZER et al. an Nieren gewonnen (1967 (23)). BELZER fand, daß bei der hypothermen (10°C) Perfusion von Nieren mit Plasma und Oxygenierung mit einem Membranoxygenator ein deutlicher Anstieg im Gefäßwiderstand auftrat (1968 (24,25)). Mikroskopische Untersuchungen ergaben, daß dieser Widerstandsanstieg auf eine multiple Embolisierung mit Fettpartikeln in den Arteriolen und Tubuli zurückzuführen war. LEE et al. (1961 (119)) hatten die Bildung von Chylomikronenaggregaten und Tröpfchen aus freien Fettsäuren nach längerwährender Rezirkulation von Plasma und Verwendung von Oxygenatoren beobachtet und auf die Denaturierung von Lipoproteinen zurückgeführt. BELZER verwendete daher Plasma, aus dem er die Lipoproteine durch Kryopräzipitation und nachfolgende Filtration entfernt hatte. Hiermit konservierte er Nieren erfolgreich bis zu 72 Stunden (23).

TRUNKEY et al. (1970 (234)) verwendeten dieses kryopräzipitierte Plasma zur pulsatilen Perfusion von Hundeherzen über 24 Stunden bei $8 - 10^{\circ}\text{C}$. Im isovolumisch schlagenden, parabiologisch perfundierten Präparat wurden Performancediagramme vor und nach Konservierung gewonnen, ohne daß nennenswerte Unterschiede gefunden werden konnten. Von 29 auf diese Weise konservierten und orthotop transplantierten Herzen konnten 12 die Kreislaufast für 5 - 10 Stunden übernehmen, wobei die Deterioration 4 h nach Bypassende begann.

LEVITSKY et al. (1970 (120)) perfundierten Hundeherzen mit kryopräzipitiertem Plasma, das mit einem Membranoxygenator arterialisiert und auf $8 - 12^{\circ}\text{C}$ gehalten wurde. Im isovolumisch schlagenden, parabiologisch perfundierten Präparat stellten sie eine normale Performance bei Konservierungs-

zeiten bis zu 18 Stunden und eine verschlechterte bei Konservierung über 24 Stunden fest. Das myokardiale Ödem überschritt in keinem Versuch 5 %.

LEVITSKY, FERRANS et al. (1970 (121)) stellten weiter Untersuchungen über die Auswirkungen von kolloidosmotischem Druck und erhöhter Osmolarität im Perfusat an und verwendeten hierzu kryopräzipitiertes Plasma, das durch Zusatz von 4 g/100 ml Dextran 60 in seiner Osmolarität von 256 auf 316 mosmol/l angehoben worden war. Es wurde über 18 Stunden in Hypothermie bei 8 - 10°C konserviert. Die Funktion wurde wiederum im isovolumisch schlagenden, parabiologisch perfundierten Präparat untersucht. Dabei wurde festgestellt, daß die Performance bei unkonservierten Herzen, mit kryopräzipitiertem Plasma und mit Plasma/Dextran perfundierten Herzen keine Unterschiede aufwies. Die Compliance hatte bei den konservierten Herzen mäßig abgenommen. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigten, daß das interstitielle Ödem in unterschiedlichem Ausmaß bei allen mit kryopräzipitiertem Plasma perfundierten Herzen vorhanden war, nicht aber bei jenen, die mit Plasma/Dextran perfundiert worden waren (65, 121). Eingehendere morphologische Untersuchungen (FERRANS 1972 (66)) zeigten u.a., daß mitochondriale Schäden wie Schwellung und Verlust der Cristae mitochondriales bei Herzen, die mit reinem Plasma perfundiert worden waren, größer waren. Dasselbe gilt für die Schwellung des sarkoplasmatischen Retikulums.

PITZELE et al. (1971 (176)) erprobten eine Anordnung, in der die Herzen zunächst für 3 - 4 Stunden bei 26 - 28°C mit Vollblut, sodann für 6 - 13 Stunden mit kryopräzipitiertem Plasma bei derselben Temperatur perfundiert wurden. Bei der Umstellung nahm die Kontraktionskraft sichtbar ab. Der O₂-Bedarf des Organs konnte offensichtlich gerade noch durch das mit einem Membranoxygenator arteriaalisierte Plasma gedeckt werden. Die Pufferkapazität des Plasmas im Vergleich zum Blut war deutlich geringer und

mußte, um eine Azidose zu vermeiden, durch Bikarbonat ausgeglichen werden. Laktat- und Pyruvatstoffwechsel schienen bei Perfusion mit Plasma keine Veränderungen im Vergleich zur Vollblutperfusion aufzuweisen.

SUROS u. WOODS (1974 (226)) konservierten Hundherzen durch pulsatile Perfusion in Hypothermie bei 6°C über 24 Stunden. Sie verwendeten als Perfusat kryopräzipitiertes Plasma, dessen Osmolarität auf 300 mosmol/l eingestellt worden war und das mit Zusätzen wie Glukose, $MgSO_4$, Penicillin, Insulin, Heparin, Methylprednisolon, Natriumbikarbonat und Chlorpromazin modifiziert worden war. Der Funktionstest erfolgte durch heterotope Transplantation in zervikaler und thorakaler Position. Die sechs zervikal transplantierten Herzen schlugen zwischen 4 und 14 Tagen, die acht thorakal transplantierten zwischen 2 und 8 Tagen. Vier konservierte Herzen waren nicht wiederzubeleben.

Nachteile der Verwendung von kryopräzipitiertem Plasma stellen die Notwendigkeit der Oxygenierung mit Membranoxygenatoren, die verhältnismäßig umständliche Beschaffung und Aufbereitung des Perfusats und die durch die Anordnung bedingte Dimensionierung der Konservierungseinheit dar. Wie CLAES et al. (1974 (45)) berichteten, ließe sich zwar der Einsatz von Membranoxygenatoren durch Verwendung von Albumin umgehen, eine echte Alternative dürfte jedoch in erster Linie in der Verwendung von künstlichen Elektrolytlösungen zur Perfusion zu sehen sein.

RINGER (1883 (191)) hatte den Einfluß verschiedener Kationen auf die Herztätigkeit untersucht und dabei festgestellt, daß die Perfusion mit reiner Kochsalzlösung eine schnelle Schwächung und baldiges Sistieren der Herzaktionen hervorruft. RINGER ergänzte das Perfusat durch Kaliumchlorid, Kalziumchlorid und Natriumbikarbonat (1883 (192), 1886 (193)) und konnte so verstärkte Kontraktionen über längere Zeiträume verfolgen.

LOCKE (1901 (127)) perfundierte Herzen im offenen System mit RINGER-Lösung bei einem Druck von 30 - 40 cm H_2O .

Das Perfusat wurde oxygeniert. Bei Zusatz von Glukose zum Perfusat konnte LÖCKE Kaninchenherzen bis zu 7 Stunden am Schlagen erhalten.

Um am isolierten Herzen Stoffwechseluntersuchungen durch Bestimmung des Glukoseverbrauchs vornehmen zu können, entwickelten LOCKE u. ROSENHEIM (1907/08 (128)) ein geschlossenes System, in dem das Perfusat - oxygenierte, mit Glukose versehene RINGER-Lösung-rezirkuliert wurde.

1955 veröffentlichte MELROSE (150) seine Untersuchungen zur Kardioplegie durch Kaliumzitrat, wofür er ebenfalls isolierte, schlagende Herzen verwendet hatte, die im offenen System bei 37°C mit einer balancierten Elektrolytlösung perfundiert worden waren.

Auch REDO (1959 (186)) verwendete zu seinen Untersuchungen über verschiedene Formen der Kardioplegie diese Anordnung. 1962 untersuchten REDO et al. (187) die Möglichkeit, Meer-schweinchenherzen zu bestimmten Zeiten nach Eintritt des Todes zu entnehmen und in diesem System wiederzubeleben, 1966 testeten sie den Erfolg der Konservierung von Meer-schweinchenherzen durch Lagerung in Ringer-Lösung bei 38°C und bei 4°C , sowie in Dimethylsulfoxid bei -6°C und durch Gefrieren in flüssigem Stickstoff durch dieselbe Anordnung (188).

In den bisher zitierten Untersuchungen war die Perfusion des Herzens mit Elektrolytlösungen weniger zur Konservierung i.e.S., sondern mehr für Stoffwechsel- und Funktionsuntersuchungen verwendet worden. Festzuhalten ist weiterhin, daß von den Autoren, die isolierte Herzen durch Perfusion mit Elektrolytlösungen in Normothermie am Schlagen erhalten konnten, durchwegs kleine Herzen (Kaninchen, Meer-schweinchen) verwendet wurden, bei denen es möglich erscheint, daß trotz der geringen O_2 -Löslichkeit noch eine hinreichende Versorgung mit O_2 gegeben war. Die Verwendung von Tieren mit einer der menschlichen vergleichbaren Herzgröße macht indes bei Perfusion mit erythrozytenfreien Medien die Anwendung von Hypothermie notwendig.

ATHREYA et al. (1968 (10), 1969 (11)) konservierten Herzen durch kontinuierliche Perfusion mit einem synthetischen, kaliumangereicherten Nährmedium nach EAGLE über 48 Stunden. Die Herzen waren vorher durch Perfusion bei Zimmertemperatur mit eben diesem Medium stillgelegt worden. Wiederbelebung wurde erfolgreich durch Perfusion bei 22°C mit normalem EAGLE-Medium durchgeführt.

MALININ, PERRY, LINDBERGH et al. stellten Untersuchungen an Affenherzen an, die in einer modifizierten Einheit zur pulsartigen Organperfusion nach CARREL u. LINDBERGH (1938 (42)) untergebracht waren. Das Perfusat bestand aus einer Elektrolytlösung nach EARLE, die mit Natriumbikarbonat gepuffert und mit einem Zusatz (10 %) Kälberserum versehen war. Das Perfusat wurde nicht oxygeniert, aber alle sechs Stunden gewechselt (1968 (172)). Die Funktion des Herzens wurde durch Beobachtung der Kontraktionstätigkeit und des EKG beurteilt. Wurde bei Temperaturen konserviert, bei denen das Herz stillstand, erfolgte 12-stündlich Erwärmung zur Funktionsbeurteilung. Vergleichende Untersuchungen zur optimalen Lagerungstemperatur ergaben ein Überleben der Präparation für 7 Tage bei einer Konservierungstemperatur von 12 - 15°C (1969 (135)). Neuere Untersuchungen an dieser Anordnung (1974 (133)) ergaben, daß die Ausbildung von Ödem bei 15°C Lagerungstemperatur am geringsten war. Der Verlust an Protein, DNA und RNA wurde in einem Bereich von 15 - 25°C am geringsten gefunden.

GARZON et al. (1969 (75)) perfundierten Hundeherzen kontinuierlich mit einer 6 %igen HydroxiäthylstärkeLösung bei 4°C über 24 Stunden. Sie maßen die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit $dP/dt_{\max}$ vor und nach Konservierung und stellten eine Deterioration dieses Parameters um 73 % fest.

PROCTOR konservierte Herzen für 72 Stunden, indem er sie apulsatil bei 15 - 20 mm Hg mit einer Flüssigkeit perfundierte, die im wesentlichen eine Krebs-Lösung mit halbiertem Kalziumkonzentration und verschiedenen pharmakologischen

Zusätzen, wie Hydrokortison und Insulin, darstellte. Außerdem wurden pro Liter Perfusat 6 g Dextran 70 zugesetzt. Das Perfusat wurde über eine freie Oberfläche mit O_2 und CO_2 im Verhältnis 95:5 oder 97:3 äquilibriert und mit einem 5 - 10 μ - Filter kontinuierlich gefiltert.

Bei der Untersuchung der Funktion der konservierten Herzen im parabiologischen Präparat zeigten sich kraftvolle Kontraktionen, die "offensichtlich" keinen Unterschied zu denen nichtkonservierter Herzen aufwiesen (quantifizierte Funktionsuntersuchungen liegen nicht vor). Das lichtmikroskopische Erscheinungsbild des Myokards wurde als normal angegeben (1968 (178), 1970 (179)).

1971 berichteten PROCTOR et al. (181) über acht orthotop Transplantationen von Herzen, die 72 Stunden mit der angegebenen Technik konserviert worden waren (das Perfusat war durch zusätzliche Beigabe von Chlorpromazin modifiziert worden). In sieben Fällen übernahmen die Herzen die Kreislaufarbeit und hielten den Kreislauf 1,5 - 2 Stunden aufrecht. Der mittlere Blutdruck bei den transplantierten Herzen betrug 70 - 100 mm Hg, der venöse Druck 2 - 4 cm H_2O und dP/dt_{max} 1200 - 2400 mm Hg/s.

Herzen, die mit dieser Technik 96 Stunden lang konserviert worden waren, zeigten im parabiologischen Präparat eine Wiederaufnahme des Sinusrhythmus innerhalb der ersten Stunde nach Reperfusion bei kraftvoller Kontraktionsfähigkeit (1971 (182), 1972 (183)). Eine suffiziente Funktion von Herzen, die 72 Stunden konserviert und anschließend orthotop transplantiert worden waren, über 8 bis 14 Stunden nach Beendigung der EKZ wurde 1973 von PROCTOR u. JONES referiert (184).

STOCKMANN et al. (1971 (223)) erprobten ein Konservierungssystem für Rattenherzen, das im wesentlichen in einer pulsatilen Perfusion bei $4^{\circ}C$ mit einer Elektrolytlösung, der verschiedene Pharmaka (Lidocain, Heparin, Atropin, Gentamycin) und Dextran 40 zugesetzt waren, bestand. Nach einer Konservierungszeit von maximal 12 Stunden wurden die Her-

zen mit der Aorta an die Aorta abdominalis und mit der A. pulmonalis an die V. cava inf. eines Wirtstiers angeschlossen. Die Beurteilung der Kontraktilität der konservierten Herzen ergab eine Minderung von 50 % gegenüber den nicht konservierten Kontrollherzen.

SUAUDEAU benutzte zur Konservierung von Hundeherzen ein Perfusionssystem, in dem pulsatile Drucke (Druckspitzen zwischen 15 und 20 mm Hg) erzeugt wurden. Das Perfusat - eine modifizierte Krebs-Ringer-Lösung ähnlich der von PROCTOR verwendeten - wurde durch einen 5 μ -Filter kontinuierlich gereinigt und mit einer Mischung von 93 % O₂ und 7 % CO₂ oxygeniert. Die Konservierung erfolgte in Hypothermie bei 4°C. Funktionsbeurteilung erfolgte wiederum im parabiologisch perfundierten Präparat. Von 32 konservierten Herzen konnte eines, das 24 Stunden und fünf, die 48 Stunden konserviert worden waren, suffiziente Leistungen in der Funktionsanalyse erbringen (Linksventrikuläre Spitzendrucke von 90 - 100 mm Hg) (1970 (224)).

In einer jüngeren Studie modifizierten SUAUDEAU et al. ihre Anordnung durch die Anwendung apulsatiler Perfusion. Im übrigen blieb die Anordnung unverändert. Die Konservierungsdauer wurde auf 72 Stunden ausgedehnt. Von den so konservierten Herzen zeigten acht nach Wiederbelebung im parabiologischen System suffiziente Aktionen mit LVP-Werten von 100 mm Hg und mehr. Allerdings wird von den Autoren hervorgehoben, daß selbst bei den erfolgreich konservierten Herzen ein mittlerer Gewichtszuwachs von 41 % während der Konservierungsperiode aufgetreten war (1973 (225)).

BROWN et al. verglichen die Funktion von Hundeherzen im parabiologisch perfundierten, isovolumisch schlagenden Präparat vor und nach Konservierung durch Lagerung bei 4°C und durch apulsatile Perfusion bei derselben Temperatur mit verschiedenen Elektrolytlösungen (Medien nach BRETSCHEIDER, EAGLE, RINGER und KREBS). Die Konservierungsdauer betrug 3 Stunden. Die Funktionsanalysen nach Konservierung ergaben, daß jedwede Perfusion mit oxygenier-

ten Flüssigkeiten eine bessere Funktion zur Folge hatte als kalte Lagerung. Innerhalb der Perfusate wurden die Lösungen nach KREBS und EAGLE als am vorteilhaftesten beschrieben (1973 (34)).

Wohl die besten Ergebnisse mit hypothermer asanguiner Perfusion von Hundeherzen wurden von COPELAND et al. beschrieben (1973 (51), 1974 (52)). Diese Gruppe verwendete eine Elektrolytlösung mit den schon von Proctor angegebenen Zusätzen (Hydrokortison, Insulin, Chlorpromazin, Dextran 70), allerdings in von Versuch zu Versuch unterschiedlichen Verhältnissen. Die Perfusion war apulsatil bei einem Druck von 18 - 40 cm H₂O. Das Perfusat wurde mit einem 0,35 μ -Filter gereinigt und mit einem Gasgemisch von 98 % O₂ und 2 % CO₂ oxygeniert. Die Konservierungstemperatur betrug 0 - 3°C. Die Autoren erreichten in einer Reihe von 7 Versuchen, in denen sie auf jeden Zusatz zur Perfusionslösung verzichteten und einen Druck von 18 - 20 cm H₂O einhielten, nach orthotoper Transplantation Überlebensraten von wenigstens 30 Stunden bei einem Maximum von 16 Tagen. Die Gewichtszunahme betrug im Mittel 38 %.

Neben den beiden wichtigsten Typen asanguiner Perfusate zur Herzkonservierung - kryopräzipitiertes Plasma und Elektrolytlösungen - sind in einzelnen Untersuchungen organische Lösungen angewendet worden, die sich von den beiden anderen Haupttypen durch eine ungleich höhere Löslichkeit für Sauerstoff unterscheiden.

Während Wasser bei 10°C 1,5 ml O₂/100 ml löst, beträgt die Löslichkeit bei dem Fluorocarbon FC 75 (3 M Company) 65 ml O₂/100 ml (LINN 1968 (125)).

HUTSON et al. (1968 (92)) perfundierten die Herzen kleiner Hunde im offenen System mit einer Dispersion von 15 % FC 43 in Hundeserum. Daneben verwendeten sie als Perfusat noch 15 %ige Dispersionen von Pflanzenöl in Hundeserum. Die Kontraktionsamplitude von in Normothermie mit Fluorocarbon perfundierten Herzen übertraf jene der mit Plasma und sogar mit diluiertem Blut (Hct 25 %) perfundierten Herzen.

Die Befunde bei Perfusion mit Pflanzenöl erreichten fast jene bei Perfusion mit Fluorocarbon.

Der Umfang der bisher auf dem Gebiet der Herzkonservierung durch Perfusion mit Fluorocarbon angestellten Untersuchungen läßt sicher noch keine Beurteilung dieses Verfahrens zu. Obwohl HUTSON et al. (92) gezeigt haben, daß das von ihnen verwendete Fluorocarbon nach Behandlung mit Ultraschall eine erythrozytenähnliche, bikonkave Form mit einem Durchmesser von $2\text{ }\mu$ annimmt, ist doch nichts über eine dem Erythrozyten vergleichbare Verformbarkeit ausgesagt. Daher wird eines der Probleme, die innerhalb dieses Konservierungssystems auftauchen werden, die Möglichkeit einer Mikroembolisation sein, wie es schon aus der Entwicklung von Oxygenatoren auf Fluorocarbonbasis bekannt ist (MENDLER et al. 1975 (154)).

Das größte Problem bei der Organkonservierung durch Perfusion liegt sicher in der Ausbildung eines Ödems während der Perfusion mit dem sich anschließenden circulus vitiosus: Ödem - erhöhter Kapillarwiderstand - verminderter Kapillardurchfluß - Hypoxie - anaerober Stoffwechsel - Azidose - Zellödem. Um diesem durch die Bedarfsdeckung am Organ entstandenen Schäden auszuweichen, kann man nun versuchen, den Bedarf an O_2 auf ein Maß zu senken, das eine O_2 -Zufuhr durch Perfusion verzichtbar erscheinen läßt. Dies wäre durch Lagerung in tiefer Hypothermie denkbar.

4.2.3. Konservierung durch hypotherme Lagerung

WEBB u. HOWARD (1958 (240)) lagerten Herzen in TYRODE-Lösung mit 10 % Plasma-Anteil bei $4^{\circ}C$, nachdem das Koronarsystem vorher mit Ringer-Lösung ausgespült worden war. Nach 6 - 8-stündiger Lagerung zeigten die Herzen bei heterotoper Transplantation mit Belastung des linken Ventrikels (vgl. 4.2.1.5.2.) gute Funktion. Von 6 Herzen, die nach 18 - 24 Stunden hypothermer Lagerung transplantiert worden waren, zeigte nur eines kräftige Kontraktionen.

Nach 28 Stunden konnten keine regelmäßigen Aktionen mehr beobachtet werden, bei längerer Konservierung war nicht einmal mehr Fibrillation zu erreichen.

1962 berichteten LOWER et al. (129) von zwei orthotopen Transplantationen von Herzen, die vorher 7 Stunden in Kochsalzlösung von 2 - 4°C gelagert worden waren. Die Empfänger überlebten die Transplantation 7 bzw. 11 Tage bis zur Transplantatabstoßung. Aber auch nach 12 - 14 Stunden Konservierung überlebten zwei von fünf Empfängern die Transplantation noch um sechs bzw. 7 Stunden. Längere Konservierungszeiten resultierten allerdings in erfolglosen Transplantationen.

CLEVELAND u. LOWER (1967 (46)) lagerten Hundeherzen 4 Stunden lang in Kochsalzlösung bei 5°C und transplantierten sie dann orthotop. Von 10 Empfängern überlebten 8 länger als 48 Stunden, davon 6 im Mittel 22 Tage. Ferner wurden Herzen, die nach Eintritt des Herzstillstands noch 30 Minuten in corpore belassen worden waren, drei Stunden bei 5°C gelagert und dann orthotop transplantiert. Von 3 Empfängern überlebte einer 5 Wochen, der andere drei Monate.

Um die maximale tolerable Ischämiezeit bei verschiedenen Temperaturen festzustellen, lagerten ANGELL et al. (1969 (8)) jeweils zehn Herzen bei folgenden Temperaturen in Kochsalzlösung: 37, 24 und 15°C. Die Funktionsanalyse wurde mit Hilfe parabiotischer Perfusion und orthotoper Transplantation vorgenommen. Es ergab sich, daß bei Lagerung in Kochsalzlösung bei 37°C die maximal tolerable Ischämiedauer 35 Minuten betrug, bei 24°C 115 Minuten und bei 15°C 230 Minuten.

HOLDEFER u. EDWARDS (1968 (88)) konservierten Hundeherzen durch Lagerung in Kochsalzlösung von 4°C und beurteilten deren Kontraktilität durch Bestimmung von $dP/dt_{\max}$ im parabiotisch perfundierten, isovolumisch schlagenden Präparat. Sie stellten dabei fest, daß $dP/dt_{\max}$ im Vergleich zu nichtkonservierten Kontrollherzen um 50,5 - 86,2 % reduziert war.

1970 versuchte KIRCHHOFF (104) die Lagerungszeit in einfacher Hypothermie dadurch zu verlängern, daß er die zu konservierenden Herzen noch im Spender mit kardioplegischer Lösung nach BRETSCHNEIDER (33) von 2°C perfundierte. Hierdurch wird nach Befunden von BONHOEFFER (1967 (29)) der Energiebedarf des Myokards im Vergleich zu Normalbedingungen auf weniger als 1 % gesenkt. KIRCHHOFF lagerte die Herzen maximal 12 Stunden und testete den Erfolg der Konservierung durch Wiederbelebung im parabiologischen Präparat und durch orthotope Transplantation. Zwar gelang bei allen parabiologischen Präparationen die Wiederbelebung, eine isovolumetrische Belastung wurde jedoch von den Herzen nicht toleriert. Bei drei durchgeführten orthotopen Transplantationen vermochten die konservierten Herzen die Kreislaufbelastung des Empfängers nicht zu übernehmen.

Ebenfalls 1970 beschrieben PROCTOR u. MATTHEWS (180) erfolgreiche orthotope Transplantationen von 9 Herzen, die bis zu 6 Stunden durch initiale Spülung mit kalter Elektrolyt-Lösung und anschließender Lagerung in modifizierter Krebs-Lösung (vgl. 178) bei 4 - 6°C konserviert worden waren. In einer jüngeren Studie (1974 (78)) ergänzten GRIEPP, STINSON, ANGELL et al. ihre Ergebnisse über die maximal tolerable Ischämiezeit des Herzens bei verschiedenen Temperaturen durch Untersuchungen über die Ischämietoleranz bei 2 - 4°C. Nach einer Lagerungszeit von durchschnittlich 13 Stunden in COLLINS-Lösung erzielten sie eine mittlere Überlebenszeit von 21 Stunden nach orthotoper Transplantation.

Überblickt man diese Ergebnisse, ist festzustellen, daß eine zuverlässige Konservierung mit einfacher hypothermer Lagerung nur für eine Zeit von 6 - 7 Stunden möglich ist. Um längere Konservierungszeiten zu erzielen, wird es also nötig sein, die Hypothermie mit anderen Prinzipien zu kombinieren oder aber noch tiefere Temperaturen anzuwenden, mithin den Nullpunkt der Celsiusskala zu unterschreiten.

4.2.4. Konservierung durch Unterkühlung und Gefrieren

Unterschreitet man - ohne sonstige Maßnahmen zu treffen - mit der Lagerungstemperatur den Nullpunkt, ist mit dem Gefrieren des Gewebswassers zu rechnen. Drei Formen des Gefrierens können unterschieden werden (98,99):

- Heterogene Kristallbildung. Sie tritt bei langsamer Abkühlung an großmolekularen Einschlüssen im Gewebe auf.
- Homogene Kristallbildung. Sie kommt bei schnellen Abkühlungszeiten (50 - 100°C /min) zustande, wobei sich sehr kleine Kristalle um Aggregate von Wassermolekülen bilden.
- Vitrifikation. Umformung von Wasser in einen glasähnlichen, amorphen Zustand. Vitrifikation kann nur durch sehr schnelle Abkühlung von ca. 130°C/s erreicht werden. Theoretisch müßten bei Vitrifikation Schäden ausbleiben, doch ist für diesen Vorgang hochgradig reines Wasser vonnöten, wie es in biologischen Verbänden natürlich nicht angetroffen wird. Das Konzept der Vitrifikation ist mithin in Gewebsverbänden vorerst nicht zu realisieren.

Versuche zur einfachen Gefrierung von Herzen (REDO u. DIME 1966 (188), SHLAFFER u. KAROW 1971 (209,210)) blieben erfolglos. KHAN et al. (1968 (102)) zeigten, daß durch Gefrieren von Muskelgewebe an Muskelprotein Sulfhydrylgruppen und ATPase-Aktivität zerstört werden (Kryodenaturation). Für die deletären Folgen des Einfrierens von Gewebe wurden unterschiedliche Erklärungen gefunden (KAROW u. WEBB (98, 99)):

- Die mechanische Schädigung von Zellstrukturen durch Kristallbildung, die vom Kern ihren Ausgang nimmt.
- Elektrolytverschiebungen, die dadurch bedingt sind, daß zur Kristallbildung nur reines Wasser herangezogen wird und sich so die Elektrolyte im verbleibenden Flüssigkeitsraum konzentrieren.

Um die deletäre Wirkung der Kristallbildung zu reduzieren,

wurden sog. Kryoprotektoren angewendet. Hierbei ist vor allem das Glycerol zu nennen, welches durch van der Waals'sche Kräfte (Wasserstoffbrückenbindung) Wassermoleküle anlagert, die dann nicht zur Kristallbildung zur Verfügung stehen.

Daneben sind aber auch noch andere Stoffe bekannt, die die Schäden des Einfrierens zu reduzieren imstande sind, wie z.B. Dimethylsulfoxid (DMSO), ferner Chloroform, Dextran, Polyvinylpyrrolidon u.a.m..

Ein Problem dieser Gefrieschutzmittel stellt allerdings ihre Gewebstoxizität dar, die noch umstritten ist.

Während KAROW et al. (1961 (97)) berichten, daß Wiederbelebung von Herzen in Glycerollösung nach initialer Perfusion mit glyzerolhaltiger Lösung nur dann möglich war, wenn vor Wiedererreichen der 25°C-Marke alles Glycerol aus dem Herzen ausgeschwemmt war, schienen VIRNO et al. (1969 (237)), die eine ähnliche Konservierungstechnik gebrauchten, auf eine derartige Bedingung verzichten zu können.

BARNER (1968 (18)) perfundierte Herzen bei 12°C mit einer 15 %igen DMSO-Lösung und konnte dabei weder nennenswerte Funktionseinbußen noch histologische Schäden feststellen. MALININ (1969 (136)) hingegen beobachtete bei DMSO-Konzentrationen von 15 % und darüber im Perfusat, daß die Herzen selbst bei vollständiger Entfernung von DMSO aus dem Koronarsystem ihre Kontraktionen nicht wieder aufnahmen.

SHLAFFER u. KAROW (1971 (209)) perfundierten Rattenherzen bei 30°C über 20 Minuten mit Elektrolytlösungen, die DMSO in unterschiedlichen Konzentrationen enthielten. Während der Perfusion wurden die Herzaktionen registriert, nach Auswaschen des DMSO-haltigen Perfusats wurden die Herzen elektronenmikroskopisch untersucht. Bei höheren Konzentrationen zeigten sich negativ inotrope und chronotrope Effekte. Die Zellorganellen waren deutlich alteriert oder zerstört. DMSO wird offensichtlich erst unterhalb einer gewissen Temperatur, die nach BARNER (18) bei etwa 12°C

liegt, ohne toxische Folgen anzuwenden sein.

KAROW et al. (1965 (100)) konnte bei Anwendung von DMSO (gegeben als 15 %ige Lösung in einer Perfusion vor dem Einfrieren) von 8 Herzen, die er bei -20°C über 20 min gefroren hatte, 6 wieder zum Schlagen bringen. Dies war auch möglich bei 8 von 9 Herzen, die er vor Einfrieren mit 6 % Dextran 70 perfundiert hatte. Anwendung anderer Perfusate, tieferer Temperaturen und längerer Konservierungszeiten blieb erfolglos.

Es muß bedacht werden, daß diese relativ kurze Überlebenszeit zudem an Herzen erzielt wurde, die infolge ihrer geringen Masse (KAROW et al. verwendeten Ratten von etwa 200g, was auf ein Herzgewicht zwischen 1 und 2 g schließen läßt) sicher nicht als repräsentativ für Herzen größerer Tiere bzw. von Menschen angesehen werden können, da sich bei so kleinen Gewebstücken die Abkühlung wesentlich homogener durchführen läßt. Derselbe Einwand muß bei anderen Untersuchungen zur Gefrierkonservierung von Herzen vorgebracht werden. Teilweise wurden erwachsene Ratten (BARNER 1968 (17), STOCKMANN u. JÜLCH 1971 (222), OFFERIJNS u. KRIJNEN 1972 (166)), teilweise sogar junge Ratten (RAPATZ 1970 (185), OFFERIJNS 1971 (164)) oder Hühnerembryonen (SCHÖPF-EBNER et al. 1968 (203)) als Herzspender verwendet.

In einer Veröffentlichung beschränkten sich OFFERIJNS et al. (1969 (162)) auf die Gefrierkonservierung von Zellkulturen aus den Herzen neugeborener Ratten.

So wird man zusammenfassend sagen müssen, daß die Herzkonservierung durch Gefrieren - obwohl dieses Konzept in Hinblick auf eine Langzeitkonservierung und Entwicklung einer "Herzbank" vorteilhaft erscheint - derzeit noch weit hinter allen anderen Konservierungsprinzipien zurückbleibt, was Dauer der Konservierung und Funktion nach Wiederbelebung angeht.

Eine Möglichkeit, die Lagerungstemperatur unter den Nullpunkt zu senken, ohne dabei das Organ mit den geschilderten deletären Konsequenzen zu gefrieren, bildet die Unter-

kühlung ("Supercooling") bei gleichzeitiger Anwendung von Maßnahmen zur Gefrierpunktserniedrigung.

BARSAMIAN et al. (1959 (19)) erreichten eine Gefrierpunktserniedrigung einerseits durch Dehydrierung von Herzen junger Hunde, wodurch sich im Gewebe eine erhöhte Elektrolytkonzentration ergab, die gefrierpunktssenkend wirkte, andererseits durch Lagerung dieser dehydrierten Herzen in 70 %iger Glyzerolösung. Die so behandelten Herzen konnten bis -8°C unterkühlt werden, ohne daß Gefrierung eintrat. Die Herzen zeigten nach Rehydratation und heterotoper Transplantation in zervikaler Position einen regelmäßigen Schlagrhythmus. BARSAMIAN u. Mitarb. schlossen aus der Tatsache, daß in einer weiteren Reihe von Herzen, die nur bei -2°C gefroren wurden, eine Wiederbelebung erfolglos blieb, daß nicht die Temperatur an sich, sondern vielmehr der Gefrierungsvorgang in irreversibler Zellschädigung mündet.

ROBERTSON et al. (1964 (194)) erreichten durch Gefrierschutz mit DMSO eine Unterkühlung ohne Gefrieren von -7°C . Zwei Herzen wurden nach 28 bzw. 30,5 Stunden Lagerung wiederbelebt und zeigten - quantitativ allerdings nicht geprüfte - Kontraktionen. In derselben Studie wurden auch die Möglichkeiten der Gefrierpunktserniedrigung durch hydrostatische Drucke untersucht. Die Autoren stellten fest, daß von isolierten Herzen über längere Dauer Drucke von 2000 - 3000 psi ($\hat{=}$ 130 - 195 ATA) ausgehalten werden. Bei Anwendung von 2000 psi konnte eine Gefrierpunktserniedrigung von -2°C erzielt werden. Zwei Herzen, die 20 bzw. 22 Stunden unter diesen Bedingungen konserviert worden waren, konnten wiederbelebt werden.

REDO u. DIME (1966 (188)) erreichten bei Lagerung in 15 % DMSO-Lösung eine Gefrierpunktserniedrigung von -6°C . Die maximale Konservierungsdauer, nach der die Herzen noch wiederzubeleben waren, betrug 4 Stunden.

4.2.5. Konservierung durch hyperbare Oxygenation in Hypo- thermie

Hypothermie vermag selbst bei einem Temperaturbereich von $0 - 5^{\circ}\text{C}$ den Sauerstoffbedarf nicht hinreichend zu senken, um Herzen länger als nur einige Stunden zu konservieren. Versuche, den Nullpunkt zu unterschreiten, mit und ohne Gefrierung des Organs, waren praktisch ohne Erfolg.

Von den Möglichkeiten, den selbst bei tiefer Hypothermie noch bestehenden O_2 -Bedarf zu decken, wurde bereits die Perfusion mit asanguinen Lösungen diskutiert.

Eine Alternative hierzu besteht in der Möglichkeit, dem Gewebe Sauerstoff unter hyperbaren Bedingungen anzubieten, wodurch sich die O_2 -Diffusionsgeschwindigkeit so erhöht, daß an eine Sauerstoffversorgung durch Diffusion allein gedacht werden kann.

BLOCH, MANAX et al. (1964 (28)) perfundierten Hundeherzen nach Entnahme mit einer auf pH 7,4 gepufferten, dextranhaltigen, physiologischen Elektrolytlösung. Nachdem nach 15-minütiger Perfusion die Koronarien ausgewaschen waren, wurde das Herz in eine Konservierungseinheit verbracht, die im wesentlichen eine Überdruckkammer war, die teilweise mit der o.g. Perfusionslösung gefüllt war. In der Kammer wurde mit einem Gemisch von 99 % O_2 und 1 % CO_2 ein Überdruck von 3,3 ATA erzeugt. Das System wurde auf einer Temperatur von $0 - 4^{\circ}\text{C}$ gehalten. Nach 24-stündiger Konservierung wurden die Herzen zervikal heterotransplantiert. Von 30 konservierten Herzen zeigten alle nach Transplantation kräftige Kontraktionen. Überlebenszeiten von 2-10 Tagen wurden erreicht. Histologisch wurde kein Anhalt für eine Schädigung dieser Herzen gefunden. Mit derselben Anordnung konservierte die Arbeitsgruppe 1965 (137) Hundeherzen erfolgreich 48 Stunden lang bei 2°C und 7,9 ATA. Bei einer Ausdehnung der Konservierungszeit auf 72 Stunden unter diesen Bedingungen (1966 (139)) nahmen von 10 Herzen nur 2 wieder einen regulären Schlag-

rhythmus auf. Bei Erhöhung des Drucks auf 15 ATA konnten allerdings von 11 über 72 Stunden konservierten Herzen alle nach zervikaler Transplantation wiederbelebt werden. KONDO et al. (1965 (108)) wandten ähnliche Bedingungen an. Die besten Ergebnisse erzielten die Autoren bei Konservierung bei 3 - 4 ATA und Hypothermie bei 2 - 4°C: Nach Konservierung bis zu 24 Stunden konnten sie nach orthotoper Transplantation in jedem Fall Übernahme der Kreislaufbelastung erzielen, 75 % der Empfänger überlebten 1 Tag.

ALMOND et al. (1965 (3)) konservierten Herzen bei 2°C und 3 ATA 100 % O₂. Nach 24-stündiger Konservierung wurden die Herzen zervikal transplantiert und nahmen in 75 % der Versuche einen koordinierten Schlagrhythmus auf.

EYAL, MANAX et al. (1965 (61)) ergänzten das Prinzip der hyperbaren Oxygenierung in Hypothermie durch die Anwendung von Chlorpromazin, welches in einer Dosis von 20 mg gemeinsam mit der eingangs genannten Lösung (28) vor der Konservierung durch die Koronarien perfundiert wurde. Auch die Flüssigkeit, in der das Herz während der Konservierung gelagert war, enthielt Chlorpromazin. Durch die Kombination: Hypothermie (2 - 4°C), hyperbare Oxygenation (7,9 ATA) und Chlorpromazin konnten kräftige Ventrikelkontraktionen nach zervikaler Transplantation regelmäßig nach Konservierung über 72 Stunden, manchmal sogar nach 96 Stunden beobachtet werden.

LACOMBE et al. (1967 (112)) transplantierten Herzen von jungen Hunden nach 3 - 20 -stündiger Konservierung bei 5°C und 4 ATA reinem Sauerstoff. Bis zu einer Konservierungszeit von 4 Stunden 45 Minuten war eine Wiederbelebung des orthotop transplantierten Herzens möglich.

MIRKOVITCH u. HAROUD (1968 (157)) erreichten bei Anwendung von Überdrucken bis zu 8,7 ATA bei 2 - 5°C Konservierungszeiten bis zu drei Tagen. Allerdings vermochten die Herzen, die drei Tage konserviert worden waren, nur linksventrikuläre Spitzendrucke von weniger als 80 mm Hg aufzubringen.

FEEMSTER u. LILLEHEI (1969 (63,64)) kombinierten hyperbare Oxygenation bei 40 psi (2,6 ATA), Hypothermie bei 15-25°C

mit pulsatiler Perfusion mit kryopräzipitiertem Plasma mit Druckmaxima von 60 - 100 mm Hg. Von 10 so konservierten Herzen konnten alle nach orthotoper Transplantation den Empfängerkreislauf aufrechterhalten, davon acht über längere Zeit (bis zu 14 Tagen).

SLAPAK et al. (1969 (214)) verwendeten zur Perfusion diluiertes Blut (Hct 5 %), das oxygeniert wurde. Die Perfusion erfolgte unter hyperbarer Oxygenierung mit 3 ATA und Hypothermie von 19°C. Die Herzen wurden nach 6-10 Stunden in abdominalen Position mit Erfolg transplantiert.

PERACCHIA et al. (1973 (171)) fanden bei Untersuchungen an Ratten, daß unter ihren Versuchsbedingungen (O₂-Überdruck von 4 ATA und Hypothermie von 4°C) eine Konservierungszeit von 10 1/2 Stunden nicht überschritten werden durfte, wenn im zervikalen Transplantat eine befriedigende Funktion erzielt werden sollte.

Ein entscheidendes Problem bei der Konservierung durch Anwendung hyperbarer Oxygenation liegt in der Toleranz des Herzens gegenüber Sauerstoffüberdruck. Der bislang berichtete tolerierte Maximalwert liegt bei 15 ATA (MANAX, LARGIARDER (116,139)).

KIRCHHOFF (104) führt die Schäden, die durch einen zu hohen Sauerstoffdruck entstehen, auf die Abhängigkeit verschiedener Enzyme, besonders der an der Oxydation von Brenztraubensäure beteiligten, von einem eng begrenzten pO₂-Optimum zurück.

Aus dem bisher in der Literatur referierten Maximaldruck von 15 ATA läßt sich anhand einer von WARBURG (239) abgeleiteten Formel die Gewebsschichtdicke d_o errechnen, die durch diesen O₂-Druck noch versorgt werden kann.

$$d_o = \sqrt{\frac{8 D' p_o}{A}}$$

A ist diejenige Gasmenge, die das Gewebe in der Zeiteinheit dt bei der Durchdringung der Schichtdickeneinheit dx verbraucht. D' ist der Diffusionskoeffizient (KROGH (110)).

Bei Hypothermie von 4°C gilt für Muskulatur

$$D' = 1,04 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{min} \cdot \text{atm}$$

$$A = 1,44 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$$

Für 15 ATA ergibt sich mit diesen Zahlen eine Grenzschichtdicke von 9,3 mm. Da die meisten Autoren aber deutlich unterhalb dieses Maximalwerts arbeiten (ca. 3 - 8 ATA), scheinen die z.T. erzielten Erfolge auf die Verwendung relativ kleiner Tiere (kleine Hunde, Ratten) oder relativ kurzer Konservierungszeiten zurückzuführen sein, wobei hier der Einwand gebracht werden muß, daß bis zu ca. 7 Stunden einfache Hypothermie zur Konservierung genügt (vgl. 4.2.3.), mithin die erzielten Erfolge nicht der hyperbaren Oxygenierung zugeschrieben werden können.

Ein weiteres Problem stellt die Dekompression des Sauerstoffüberdrucks bei Beendigung der Konservierungsphase dar. Wegen der Gefahr der Entstehung von Gasblasen mit konsekutiver Zellschädigung und Gefäßembolisierung empfehlen verschiedene Autoren eine langsame (MANAX et al. (140), LARGIADER (118)), z.T. sogar mehrere Stunden beanspruchende, kontinuierliche Dekompression (BUI-MONG-HUNG (35)). Ein Nachteil der hyperbaren Oxygenierung im Vergleich zur Perfusion liegt ferner in dem Umstand, daß das Organ nur mit Sauerstoff, nicht aber mit Substraten versorgt wird. TAHERI et al. (1968 (228)) nahmen daher aufgrund elektronenmikroskopischer Untersuchungen an Herzen, die unter hyperbaren und hypothermen Bedingungen konserviert waren, an, daß in Anwesenheit von Sauerstoff und in Abwesenheit von Substraten vom Herz das eigene kontraktile Protein metabolisiert wird.

Die Arbeitsgruppe SISKa, HOLEC, FEDELISOVA, ZIEGELHÖFFER et al. (1970 (211), 1971 (253)) versuchte den Substratmangel durch exogene Zufuhr von Succinat, 3-Hydroxybutyrat und Aspartat zu beheben. Es wurden damit zwar gewisse Erfolge erzielt, doch konnte der Metabolitstatus des durch hyperbare Oxygenation in Hypothermie konservierten Herzens nicht an die Kontrollwerte angenähert werden.

Abschließend sei noch auf einige interessante Befunde hingewiesen, wonach nicht nur hyperbarer Sauerstoff, sondern auch hyperbarer Stickstoff und Edelgase für die Konservierung verwendet werden können. So konnte LYONS (1966 (131)) Herzen nach 24-stündiger Konservierung in Hypothermie bei 2°C und 4 ATA N_2 oder He wiederbeleben.

MEESSEN, BREITHARDT et al. (1972 (30, 148)) schließlich konnten durch funktionelle und elektronenmikroskopische Untersuchungen am Meerschweinchenvorhof zeigen, daß auch ein Xe/O_2 - Gemisch (im Verhältnis 80/20 oder 90/10) eine konservierende Wirkung besitzt.

4.3. EIGENE EXPERIMENTE

4.3.1. Die Konservierung durch hypotherme asanguine Perfusion und ihre Randbedingungen

Die bisher publizierten Ergebnisse zu den unterschiedlichen Möglichkeiten der Herzkonservierung (vgl. 4.2.) haben gezeigt, daß die hypotherme asanguine Perfusion des isolierten Spenderherzens derzeit die meisten Erfolgsaussichten bietet, was Dauer der Konservierung, Überleben nach orthotoper Transplantation und Praktikabilität des Konservierungsverfahrens angeht.

Das in dieser Arbeit vorgestellte Verfahren sollte dazu beitragen, die Probleme, die sich bei diesem Konservierungsprinzip noch ergeben, zu reduzieren.

Die Hauptschwierigkeit dürfte wohl in Übereinstimmung mit den bisher mit diesem Verfahren befaßten Autoren (PROCTOR (178,179,181-183), COPELAND (51,52), SUAUDEAU (224,225) u.a.m. (vgl. 4.2.2.)) in dem durch myokardiale Elektrolytverschiebungen bedingten Ödem mit konsekutiver Zunahme des Koronarwiderstands zu sehen sein.

4.3.1.1. Die intermittierende Perfusion

Es liegt nahe, die o.g., perfusionsbedingten Schäden durch Reduktion der Perfusion auf ein den aeroben Stoffwechsel gerade noch gewährleistendes Maß zu vermindern. In dem vorgestellten Verfahren wurde dies durch Einschaltung von Perfusionspausen, mithin durch intermittierende, pulsatile Perfusion angestrebt.

Die Autoren, die Herzkonservierung mit kryopräzipitiertem Plasma anwandten, arbeiteten überwiegend mit pulsatilen Flüssen (FERRANS et al. (65,66), SUROS u. WOODS (226), TRUNKEY et al. (234)). BELZER, der das Verfahren der Perfusion mit kryopräzipitiertem Plasma für die Nierenkonservierung inauguriert hatte (23), wandte prinzipiell pulsatile Flüsse an und schrieb kontinuierlicher Perfusion eine Rolle bei der Entwicklung des Zellödems bei der Organ-

konservierung zu (24,25). BELZER berichtete auch (24), daß nur eine von vier mit apulsatiler Perfusion konservierten Nieren funktionsfähig war, und selbst diese in ihrer Funktion den pulsatil perfundierten weit unterlegen war. Untersuchungen von MANDELBAUM et al. (142), NAKAYAMA et al. (161), DALTON et al. (53) sowie von GIRON et al. (77) ergaben einen deutlichen Anstieg des Perfusionsdrucks und Gefäßwiderstands bei Anwendung von kontinuierlichen Flüssigkeiten im Vergleich zu pulsatilen.

Wenngleich sowohl die Befunde bei Perfusion mit kryopräzipitiertem Plasma als auch die eben zitierten, die bei extrakorporaler Zirkulation am Gesamtorganismus gewonnen wurden, nicht unmittelbar auf unser Konservierungssystem übertragbar sind, wird doch deutlich, daß die physiologische Form der pulsatilen Perfusion sich günstig auf den Gefäßwiderstand auswirkt, der seinerseits zumindest am isolierten Organ in Hypothermie die Ödembildung widerspiegelt. Diese Ansicht wird unterstützt von SUAUDEAU (1970 (224)), der berichtet, daß er bei Herzen, die er mit einer Elektrolytlösung in Hypothermie apulsatil perfundiert hatte, ein stärkeres Ödem und eine schlechtere Funktion nach Konservierung fand als bei den pulsatil perfundierten. In einer neueren Veröffentlichung (1973 (225)) verwendet SUAUDEAU allerdings kontinuierliche Perfusion und führt die Ödementwicklung ausschließlich auf Perfusionsdruck, Volumen und pH-Wert des Perfusats zurück.

Auch PROCTOR (178,179,181-184) und COPELAND (51,52) wandten bei ihren Konservierungsversuchen mit anschließender erfolgreicher Transplantation apulsatile Perfusion an. Allerdings bleibt festzuhalten, daß PROCTOR von Gewichtszunahmen bis 60 % (nach 96 Stunden, der 24-Stunden-Wert liegt bei ca. 35 % (Abb. 20/1 in (184))) berichtet und COPELAND bzw. SUAUDEAU (bei kontinuierlicher Perfusion (225)) mittlere Gewichtszuwächse von 38 bzw. 41 % angeben. Demgegenüber beträgt die mittlere Gewichtszunahme in unseren, in 3.1. beschriebenen Versuchen, die ansonsten zumindest mit

denen von PROCTOR und COPELAND vergleichbar sind, nur 13,1 %. Da COPELAND und PROCTOR auf gute Funktion der konservierten Herzen im orthotopen Transplantat verweisen können, scheinen die referierten Gewichtszunahmen nicht deletär hinsichtlich der Übernahme der Kreislaufbelastung nach Transplantation und bei längerer Schlagtätigkeit reversibel zu sein. Da derartige Gewichtszunahmen allerdings zwangsläufig mit einer Verminderung der Compliance einhergehen, ist eine Reduktion des Gewichtszuwachses im Hinblick auf die initiale Funktion des konservierten Herzens nach Transplantation sicher vorteilhaft. Die Anwendung intermittierender Perfusion, die nach den o.g. Befunden einen wesentlichen Beitrag zur Reduktion der Gewichtszunahme leistet, scheint unter diesem Gesichtspunkt gerechtfertigt, zumal wenn sie, wie in unserer Anordnung, keinen nennenswerten, zusätzlichen Aufwand erfordert.

4.3.1.2. Der Perfusionsdruck

Im Gegensatz zur Frage der Pulsatilität ist die Höhe des Perfusionsdrucks kaum umstritten. PROCTOR (178,179,181-184) wendete 20 - 30 cm H₂O, COPELAND (51,52) 18 - 40 cm H₂O an, wobei er die besten Ergebnisse im Bereich von 18 - 20 cm H₂O hatte. SUAUDEAU (224,225) arbeitete ebenfalls mit 20 - 30 cm H₂O und gab an, daß der Perfusionsdruck einen Wert von 40 cm H₂O keinesfalls über- und einen Wert von 14 cm H₂O nicht unterschreiten sollte.

Ein Druckbereich von 27 - 30 cm H₂O stellt nach neueren Untersuchungen von GRUNDMANN et al. (1975 (79)) auch das Optimum bei der Perfusion von Nieren in Hypothermie bei 7°C dar. Nach 72-stündiger Konservierung wiesen die mit dem o.g. Druck perfundierten Nieren den geringsten Gewichtszuwachs und die beste Funktion nach Transplantation auf.

Unsere in 3.5 dargestellten Untersuchungen stehen in Übereinstimmung mit den zitierten Befunden. Die Sauerstoffversorgung wird unterhalb eines Bereichs von 20 - 25 cm H₂O

zunehmend schlechter, was sich einerseits an einer erhöhten O_2 -Ausschöpfung des Perfusats (niedrige $pO_{2,ven}$ (Abb. 34)), andererseits an stark ansteigenden Laktatwerten als Zeichen anaeroben Stoffwechsels (Abb. 35) zeigt.

Überschreitet man hingegen einen Perfusionsdruck von 25 cm H_2O , erreicht der venöse O_2 -Partialdruck ein Plateau, so daß man von einer ausreichenden Versorgung mit O_2 oberhalb dieses Werts ausgehen kann. In gleicher Weise erreichen die Laktatspiegel im Bereich von 20 - 40 cm H_2O Minimalwerte. Die Überschreitung eines Werts von 25 cm H_2O bringt also keinesfalls eine Verbesserung der Sauerstoffversorgung, sondern nur eine vermehrte Gewichtszunahme (Abb. 33). Letztere ist allerdings auch bei Unterschreiten eines Werts von 15 cm H_2O zu beobachten, was auf die durch die hohen Laktatwerte wiedergespiegelten Stoffwechselalterationen zurückzuführen sein dürfte.

Das Verhalten der Enzyme (Abb. 36 - 39) unterstreicht im wesentlichen die aus dieser Reihe zu gewinnende Feststellung, daß das Optimum des Perfusionsdrucks innerhalb unserer Anordnung im Bereich zwischen 15 und 25 cm H_2O liegt.

4.3.1.3. Die Zusammensetzung des Perfusats

Hierbei finden wir große Variationen bei den verschiedenen Autoren, die auf der Basis künstlicher Elektrolytlösungen gearbeitet haben.

Im Gegensatz zu verschiedenen Autoren (ATHREYA (10,11), SUAUDEAU (224), CALMAN (39-41)), die insbes. unphysiologisch hohe Kaliumkonzentrationen einsetzten, verwendeten wir in Übereinstimmung mit PROCTOR (178,179,181-184) und COPELAND (51,52) eine Lösung, die die Elektrolyte im wesentlichen in physiologischen extrazellulären Konzentrationen enthielt. Die Kalziumkonzentration war im Vergleich zu den Normwerten im Serum halbiert mit Rücksicht auf die Tatsache, daß auch im Serum nur etwa die Hälfte des Gesamtkalziums frei und damit biologisch aktiv ist (147). Eine weitere Abweichung betraf das Magnesium, das in un-

serem Perfusat in annähernd dreifacher Serumkonzentration vorlag. CALMAN et al. (40,41) hatten bei Untersuchungen an Ratten einen günstigen Einfluß von hohen Magnesiumkonzentrationen auf die Wiederbelebbarkeit des konservierten Herzens festgestellt.

Die Anwendung von Kalium und Magnesium in Form des K-Mg-Aspartats erfolgte in Anbetracht folgender Erkenntnisse:

- Zwischen Aspartat und Kaliumionen bestehen Wechselbeziehungen beim Transport durch die Zellmembran, möglicherweise in Form eines gemeinsamen Transportsystems in die Zelle (RING et al. 1975 (190)). Die Asparaginsäure hat eine außerordentlich hohe Affinität zum Intrazellulärraum. Im Erythrozyten ist sie 185 mal stärker konzentriert als im Plasma. Die am nächsthöchsten konzentrierte Aminosäure, die Glutaminsäure, ist im Erythrozyten nur 6 mal so stark konzentriert wie im Plasma (89). Die Maximalgeschwindigkeit der Kaliumaufnahme in die Zelle wird durch Aspartat erhöht (190). Daraus geht hervor, daß der Asparaginsäure und den Kationen, die an sie gebunden sind, der Durchtritt durch die Zellmembran bevorzugt möglich ist (STAIB u. KRETZSCHMAR (218), SEBENING et al. (206)).
- Aspartate wirken auf die Pools an energiereichen Phosphaten stabilisierend und konservierend (MENDLER et al. (153)).
- Aspartate steigern die myokardiale Anoxieresistenz (DUDZIAK et al. (59), ROSEN et al. (198)).

Die genannten Aspekte sind ausführlich von MÜNCHEN (159) diskutiert worden. In derselben Arbeit sind auch die Funktionen der Spurenelemente Zink, Kupfer und Mangan dargestellt, die - summarisch gesprochen - Enzymaktivatoren sind und in dem von uns verwendeten Perfusat in Form ihrer asparaginsäuren Chelate vorliegen. Es muß allerdings an dieser Stelle hervorgehoben werden, daß alle hier mitgeteilten Befunde nicht die Pharmakologie der Aspartate in tiefer Hypothermie wiedergeben. Inwieweit eine Anwendung

dieser Erkenntnisse auf die in unseren Versuchen gegebenen Verhältnisse möglich ist, ist noch zu wenig bekannt.

Immerhin zeigen Ergebnisse von ZIEGELHÖFFER (253), daß K-Mg-Aspartat, in die Koronarien verabreicht, bei Konservierung von Herzen in Hypothermie (3°C) und bei Sauerstoffüberdruck (7 ATA) eine Konservierung der energiereichen Phosphate bewirkt.

Von TÖRÖK u. RÖTH (1974 (233)) wurden Versuche zur Konservierung von Nieren durch Perfusion mit K-Mg-Aspartat-haltigen Lösungen durchgeführt. Durch histochemische Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß durch Zusatz von K-Mg-Aspartat in geeigneten Konzentrationen zu hypothermen Konservierungslösungen die Enzymaktivität des Tubulussystems annähernd 24 Stunden aufrecht erhalten wurde.

Um die Ausbildung des Gewebsödems zu reduzieren, verwenden verschiedene Autoren Dextran als onkotisch wirksame Substanz. So setzten SUAUDEAU (224,225) und CALMAN (40) Dextran 40 ein. CALMAN stellte sogar fest, daß Dextran 40 als kolloidosmotisches Agens anderen Kolloiden signifikant überlegen ist. Demgegenüber setzten PROCTOR (178,179,181-184) und COPELAND (51,52) ihren Perfusaten Dextran 70 zu. COPELAND berichtet, daß er seine erfolgreichste Versuchsreihe mit sieben erfolgreichen Transplantationen und Überleben bis zu 16 Tagen ohne Verwendung von Dextran durchgeführt hatte. Auch das von uns verwendete Perfusat enthält kein Dextran.

Im Gegensatz zum Blut, wo der Effekt des Dextrans, durch Hemmung der Erythrozyten- und Thrombozytenaggregationen im Bereich der Mikrozirkulation "verflüssigend" zu wirken, im Vordergrund steht, ist bei Dextrananwendung in einem asanguinen Perfusat vor allem auch an die Viskositätserhöhung mit Einflüssen auf den Perfusatfluß und damit auf die Sauerstoffversorgung zu denken. THEOBALD (232) fand bei vierstündiger Perfusion von Rattenherzen in Hypothermie bei $2-3^{\circ}\text{C}$, daß sich die Ödembildung durch Dextranzusatz zum Perfusat nicht vermindern ließ und daß sich das Ödem

bei Reperfusion zudem langsamer zurückbildete, als bei Herzen, die mit dextransfreier Lösung perfundiert worden waren. Als Ursache diskutierte er eine Einlagerung niedermolekularer Anteile des Dextrans in das Gewebe mit einer konsekutiven Erhöhung des interstitiellen kolloidosmotischen Drucks, welche bei Reperfusion eine rasche Ödemausschwemmung verhindert.

Eine Dextranevasation erscheint auch insofern plausibel, als man beim isolierten Herzen von einer erhöhten Kapillarpermeabilität auszugehen hat. Zu diesem Befund gelangten SUTHERLAND u. YOUNG (227) bei Versuchen, in denen sie Rattenherzen in vitro mit Krebs-Lösung perfundiert hatten, der mit Evan's Blue konjugiertes Albumin zugesetzt war. Die Autoren stellten fest, daß das Albumin in großem Umfang in den extravasalen Raum penetriert war. Ein vergleichbares Verhalten dagegen in vivo nicht festzustellen.

Eine weitere Frage bei der Zusammensetzung des Perfusats betrifft die Anwendung von pharmakologischen Zusätzen. Eingangs (4.1.1.) wurde schon die Möglichkeit einer Stoffwechselreduktion durch sog. metabolische Inhibitoren erwähnt.

Eine Arbeitsgruppe um WEBB hat sich in mehreren Studien mit der Anwendung dieser Substanzen beschäftigt (241, 242, 246, 160). Es wurde die Frage untersucht, ob pharmakologisch die Wiederbelebenszeit des anoxischen Herzens bei 37°C verlängert werden könnte. Eine signifikante Verlängerung der Wiederbelebenszeit war durch vorangehende Perfusion mit Magnesiumsulfat, Natriumfluorid/Adrenochrom und Magnesiumsulfat/Chlorpromazin zu erzielen. Mit letzterer Kombination zeigten Hundeherzen noch nach 4-stündiger Anoxie gute Funktion im zervikalen Transplantat (NAKAE, WEBB et al. (160)).

Durch Kombination von Hypothermie bei 4°C und Perfusion mit einer nicht oxygenierten, magnesiumsulfathaltigen (2 %) Lösung konnten KAMIYAMA et al. (1970 (96)) Rattenherzen bis 48 Stunden konservieren.

EYAL, MANAX et al. (61) konnten, wie schon erwähnt (4.2.5.) durch Anwendung von Chlorpromazin die Konservierungszeit in ihrem System einer hypothermen Lagerung mit hyperbarer Oxygenation wesentlich ausdehnen.

FONKALSRUD et al. (67) wiesen bei Versuchen zur Lebertransplantation nach, daß dem Chlorpromazin sowie dem Phenoxybenzamin nicht nur eine Funktion als metabolische Inhibitoren, sondern auch als Membranstabilisatoren an den Lysosomen zukommt. Bei Verwendung von Leberspendern, die mit diesen Pharmaka vorbehandelt worden waren, zeigte sich nach erfolgter Transplantation, daß die Freisetzung von lysosomalen Enzymen in geringerem Umfang und später eintrat als bei Verwendung nicht prämedizierter Spender.

BELL et al. (22) stellten eine signifikante Verlängerung der Wiederbelebenszeit von Rattenherzen bei Vorbehandlung der Spender mit Heparin und Phenoxybenzamin fest.

Eine lysosomenmembranstabilisierende Wirkung wird ferner dem Methylprednisolon und dem Hydrocortison zugeschrieben (MANAX (141), STARLING et al. (220), WOODS et al. (251)). Durch Zusatz von Procain soll Flimmern des Herzens bei der Reperfusion vermieden werden.

Unter Berücksichtigung dieser Tatsachen haben wir unserem Perfusat Chlorpromazin, Hydrocortison und Procain zugesetzt, in dem Bewußtsein, daß die Verwendung dieser Pharmaka für unsere Zwecke solange spekulativen Charakter trägt, als wir nicht über genauere Kenntnisse über die Pharmakologie dieser Substanzen bei der von uns angewandten tiefen Hypothermie von 4°C verfügen.

Weiterhin war unserem Perfusat Glukose zugesetzt. FUHRMANN u. FUHRMANN (73) haben durch Studien an Rattenerythrozyten und -zwerchfellen gezeigt, daß Glukoseaufnahme in die Zelle und Glukosestoffwechsel auch bei tiefer Hypothermie anhalten und TAHERI (228) hält sogar Schädigungen der Zellstruktur durch Metabolisierung des kontraktilen Apparates bei Substratmangel für wahrscheinlich (vgl. 4.2.5.).

Unser Perfusat enthielt ferner Insulin, um die Penetration der Glukose in die Zelle abzusichern. Auch PROCTOR, SUAUDEAU

und CALMAN verwandten Insulin. CALMAN (40) fand sogar signifikant höhere Überlebensraten bei Verwendung von Insulin. Dagegen streitet COPELAND (51) die Notwendigkeit eines Zusatzes von Insulin ebenso wie anderer Pharmaka ab und verweist auf seine erfolgreichen Transplantationen nach Konservierung mit Perfusaten ohne solche Additiva. (vgl. auch 4.3.2.1.).

4.3.1.4. Perfusatvolumen

Das Volumen des eingesetzten Perfusats wird bei vergleichbaren Anordnungen überraschend einheitlich gehandhabt. So verwendet PROCTOR (178,179,181-184) 1500 - 2000 ml, COPELAND (51,52) ebenso wie SUAUDEAU (224,225) 1500 ml. Das Füllungsvolumen unserer Perfusionskammer betrug ebenfalls 1500 ml. Offensichtlich kommt der Größe des Füllungsvolumens einige Bedeutung zu, denn SUAUDEAU berichtete von Versuchen (225), bei denen er mit 3000 ml gearbeitet und einen mittleren Gewichtszuwachs von 74 % bei schlechten funktionellen Ergebnissen erhalten hat. Er schlug vor, das Perfusatvolumen am Herzgewicht zu orientieren und dabei einen Wert von 7 ml/g nicht zu überschreiten. SUAUDEAU stellte sogar eine direkte Beziehung zwischen dem Perfusatvolumen/g Herzgewicht und dem Gewichtszuwachs her.

4.3.1.5. Filterung des Perfusats

Unumstritten ist auch die Notwendigkeit einer ständigen Filterung des Perfusats, um das Herz, das äußerst empfindlich gegenüber Unreinheiten in geschlossenen Kreisläufen ist, vor Mikroembolisation durch Zellen, Zellaggregate, Zelldetritus, Präzipitate etc., zu schützen.

PROCTOR verwandte zunächst Glasfritten mit 8 - 10 μ Porengröße (178), später Papierfilter mit 8 μ (179,181-184), COPELAND (51) solche mit 0,35 μ und SUAUDEAU (224,225) mit 5 μ .

Für unsere Anordnung haben sich Papierfilter mit 1,2 μ als am günstigsten herausgestellt, da der Filtrationswider-

stand einerseits nicht zu hoch wird für unsere relativ kleinen Filtrationsdrucke, andererseits die Porengröße klein ist gegen einen Erythrozytendurchmesser von ca. 8μ , so daß der Filter durch die manchmal mit in die Perfusionskammer eingebrachten Erythrozyten nicht verstopft werden konnte.

4.3.1.6. Der pH-Wert des Perfusats

Einer der wesentlichsten Vorteile unserer Anordnung dürfte wohl in der präzisen Einstellbarkeit des pH-Werts im Perfusat zu sehen sein. Dadurch war es möglich, Untersuchungen über die Frage anzustellen, ob der pH-Normalwert im arteriellen Blut bei Normothermie von ca. 7,40 auch in einem asanguinen Perfusat in Hypothermie bei 4°C als Optimum anzusehen ist.

Die meisten Autoren, die mit hypothermer asanguiner Perfusion gearbeitet haben, geben an, daß sie ihr Perfusat im physiologischen pH-Bereich gehalten haben (ATHREYA (10), GARZON (75), TRUNKEY (234), STOCKMANN (223), COPELAND (51), SUAUDEAU (224,225)).

CALMAN verwendete bei seinen Studien an hypotherm perfundierten Rattenherzen zunächst einen pH von 7,0 (39), und nahm dabei auf COLLINS et al. Bezug, die ihre Perfusate zur asanguinen Nierenperfusion ebenfalls auf diesen pH-Wert eingestellt hatten (47). In einer weiteren Studie stellte CALMAN allerdings anhand von vergleichenden Untersuchungen ein pH-Optimum von 7,5 fest (41).

SUAUDEAU (224,225) führte sogar Mißerfolge bei seinen Konservierungsversuchen auf das Verlassen eines pH-Wertebereichs von 7,35 - 7,43 bzw. auf starke pH-Schwankungen zurück. BERCOT et al. (26) berichteten demgegenüber, daß initiale Perfusion mit asanguinen Lösungen mit einem pH-Wert von 6,30 bei 24-stündiger Lagerung in Ischämie bei 4°C die beste Konservierung der ATP-Bestände gewährleiste. Unsere eigenen Versuche zeigten weder eine so extreme Sensibilität der gelagerten Herzen gegenüber Abweichungen vom physiologischen pH-Bereich, wie sie von SUAUDEAU be-

richtet wurde, noch konnten wir positive Effekte auf den Konservierungserfolg bei Anwendung von sehr niedrigen pH-Werten finden. Sowohl die biochemischen Parameter, die während der Konservierungsphase gewonnen worden waren, als auch die nachfolgende Funktionsanalyse weisen auf ein pH-Optimum im Bereich von 7,2 - 7,4 hin. Besonders eindrucksvoll wird durch die Funktionskurven die Instabilität der Herzen dokumentiert, die bei pH-Werten von weniger als 7,0 konserviert worden waren. Insofern werden durch unsere Befunde die von den eingangs dieses Abschnitts zitierten Autoren arbiträr im physiologischen Bereich angenommenen pH-Werte bestätigt.

4.3.2. Biochemische Befunde während der Konservierungsphase

4.3.2.1. Der Energiestoffwechsel

Das Verhalten von pO_2 , pCO_2 , Glukose- und Laktatspiegel im Perfusat in Abhängigkeit von der Zeit macht initiale Alterationen des myokardialen Stoffwechsels deutlich, der jedoch einige Stunden nach Beginn der Konservierung einen stabilen Zustand zu erreichen scheint.

Zu Beginn der Konservierungsphase ist die Sauerstoffausschöpfung relativ groß, ebenso die arteriovenöse pCO_2 -Differenz. Sowohl die AVD_{pO_2} als auch die AVD_{pCO_2} erreichen einen Minimalwert nach den ersten 6 - 8 Stunden der Konservierungsphase (Abb. 6). Somit scheint der aerobe Stoffwechsel zu Beginn der Konservierungsphase noch etwas intensiver abzulaufen, als dies der Lagertemperatur nach zu erwarten wäre. Doch auch die Intensität anaerober Stoffwechselvorgänge erreicht in den ersten Stunden ihr Maximum, abzulesen an der Laktatproduktion (Abb. 8). Möglicherweise ist die initial erhöhte Stoffwechselintensität zumindest teilweise auf eine noch nicht vollständig erfolgte Abkühlung des Organs auf die Lagertemperatur von

4°C zurückzuführen. Es liegt nun die Deutung nahe, daß unter diesen Bedingungen die Sauerstofftransportkapazität des den Sauerstoff ja nur physikalisch lösenden Perfusats nicht ausreicht, um den erhöhten O_2 - Bedarf ausreichend zu decken, so daß das Organ gezwungen ist, anaerob zu metabolisieren.

Dies erklärt den anfänglich hohen Laktatspiegel. Man könnte nun den Einwand erheben, daß unter diesen Umständen auch eine intensivere O_2 -Ausschöpfung aus dem Perfusat stattfinden müßte, als dies in Abb. 6 dargestellt ist. Indes erfährt die o.g. Hypothese einer unzureichenden Sauerstofftransportkapazität eine Bestärkung durch die Tatsache, daß auch bei einem anderen Typ der Sauerstoffunterversorgung - der durch zu niedrigen Perfusionsdruck herbeigeführt - beträchtliche Laktatmengen erzeugt werden, ohne daß die O_2 -Utilisation größer wäre als die in Abb. 6 dargestellte (vgl. Abb. 34 und 35). So betrugen die 24-Stundenwerte des venösen pO_2 und des Laktats bei einem Perfusionsdruck von 15 cm H_2O 498 mm Hg bzw. 6,39 mg/100 ml. Offensichtlich ist es so, daß die Fähigkeit des konservierten Herzens, aus dem Perfusat Sauerstoff auszuschöpfen ohne gleichzeitig in größerem Umfang anaerobe Stoffwechselwege einzuschlagen, bei einem bestimmten venösen pO_2 -Wert ihre Begrenzung findet. Dabei ist es gleichgültig, ob ein relativer Sauerstoffmangel durch einen erhöhten Bedarf (wie in Abb. 6 bzw 8) oder durch ein vermindertes Angebot (wie in Abb. 34 bzw. 35) zustandekommt.

Eine andere Erklärung für die selbst bei geringem arteriellem pO_2 hohen venösen pO_2 -Werte wäre darin zu sehen, daß ein Teil des perfundierten Volumens nicht in die Endstrombahn gelangt, sondern über arteriovenöse Kurzschlüsse abfließt und so nicht entsättigt wird. Die hohen venösen pO_2 -Werte kämen dann durch Zumischung dieses Shuntvolumens zustande.

Im zweiten und dritten Drittel der Konservierungsperiode finden sich demgegenüber alle Anzeichen eines stabilen aeroben Stoffwechsels: Die arteriovenösen pO_2 -und pCO_2 -

Differenzen nehmen leicht zu, der Glukoseabfall im Perfusat beträgt in diesem Zeitraum, wie schon in 3.1.2. erwähnt, das Dreifache des Werts im ersten Drittel der Konservierungszeit und der Laktatgehalt im Perfusat nimmt ab, was nur durch den Laktatabbau, zu dem das Herz ja im besonderen befähigt ist, erklärt werden kann. PROCTOR (184) berichtet ebenfalls, daß in den ersten Stunden gebildetes Laktat bei Herzen, die im Anschluß an die Konservierung gute Funktion zeigten, im Verlauf der weiteren Konservierungsphase wieder abgebaut wurde.

Die initialen Irritationen des Stoffwechsels beschränken sich also offensichtlich auf die ersten 6-8 Stunden der Konservierungsperiode und sind reversibel. Von einer derartigen initialen Phase mit gewissen Stoffwechselalterationen spricht auch SUAUDEAU (225), der sie ebenfalls auf den Kühlungsprozeß sowie auf die bei der Entnahme erzeugten Ischämiephasen zurückführt.

Berechnet man den mittleren Sauerstoffverbrauch der konservierten Herzen während der gesamten Konservierungsperiode, so erhält man einen Wert von $10,2 \text{ mMol O}_2/24 \text{ h}$. Die mittlere Glukoseabnahme im Perfusat beträgt ca. $2,52 \text{ mMol}$ ($=454,5 \text{ mg}$)/ 24 h . Dieser Wert ordnet sich recht gut in die Befunde anderer Autoren ein: FUHRMANN u. FUHRMANN (73) maßen an Rattenzwerchfellen eine Glukoseaufnahme von $6,3 \text{ } \mu\text{g}/100 \text{ mg/h}$ bei 4°C . Rechnet man diesen Wert auf unsere Bedingungen um, erhält man einen Wert von $378 \text{ mg}/24 \text{ h}/249 \text{ g}$ mittleres Herzgewicht. Rechnet man den schon von LOCKE und ROSENHEIM (1907/08 (128)) in einem geschlossenen Perfusionssystem mit oxygenierter, glukosehaltiger Ringerlösung bei 37°C bestimmten Wert für die Glukoseaufnahme von 1 mg/h/g HW unter Zugrundlegung eines Q_{10} von 2 für die Glukoseaufnahme (KIPNIS et al. (103)) auf unsere Bedingungen um, so erhält man eine Glukoseaufnahme von $600 \text{ mg}/24 \text{ h}/249 \text{ g}$ mittleres Herzgewicht.

Bei vollständigem Abbau der aus dem Perfusat aufgenommenen Glukose wären entsprechend der Bruttogleichung:



$6 \times 2,52 = 15,12$ mMol O_2 statt der von uns gefundenen 10,2 mMol vonnöten. Somit liegt die Ansicht nahe, daß die Glukose wohl aus dem Perfusat in das Myokard aufgenommen, dort aber nicht vollständig metabolisiert, sondern vielmehr als freie intrazelluläre Glukose abgelagert worden ist.

Diese Befunden stimmen überein mit denen von PARK et al. (167), sowie KIPNIS et al. (103), die bei Untersuchungen am Rattenzwerchfell bzw. -gastrocnemius feststellten, daß freie Glukose in der Zelle zwar nicht in Normothermie, wohl aber in Hypothermie zu finden sei. Die zitierten Autoren schlossen daraus, daß die Temperaturabhängigkeit der Glukoseaufnahme geringer sei als die der Phosphorylation, mithin die Aufnahme den Abbau überwiege. Die Aufnahme der Glukose in die Zelle dürfte nach diesen und auch nach unseren Befunden nicht der limitierende Faktor bei der Versorgung der Zelle mit Substrat sein, sondern vielmehr der eigentliche Abbau. Unter diesem Aspekt erscheint es auch fraglich, ob der Zusatz von Insulin zum Perfusat notwendig ist, was ja von COPELAND et al. (51) verneint wird.

4.3.2.2. Der Wasser- und Elektrolythaushalt

Während der Intermediärstoffwechsel - soweit an den von uns gemessenen Parametern erkennbar - nach einer Einpendelphase ein stabiles und für die Temperatur physiologisches Niveau erreicht, sind am Wasser- und Elektrolythaushalt während der Konservierungsphase tiefgreifendere Alterationen zu beobachten.

Wie in 3.1.3. dargestellt, wird während der Konservierungsperiode ein Anteil von 9,1 % des gesamten intrazellulären Kaliums in das Perfusat abgegeben. Der Schluß, daß dies auf eine Schädigung einer entsprechenden Anzahl von Myokardzellen mit einem mechanischen "Auslaufen" des kaliumreichen Zytoplasmas zu erklären ist, ist unzulässig. In diesem Fall müßten nämlich auch andere intrazellulär hochkonzentrierte Substanzen, u.a. auch das Phosphat und zumindest die

zytoplasmatischen Enzyme (CPK, α -HBDH) ähnliche Konzentrationsanstiege im Perfusat aufweisen. Tatsächlich beträgt die Phosphatfreisetzung aber nur 1,61 %, die Freisetzung der Enzyme maximal 0,47 % des gesamten intrazellulären Anteils (vgl. 3.1.4.). Aufgrund dieser starken Diskrepanz wird man von zwei unterschiedlichen Mechanismen zur Erklärung der genannten Befunde auszugehen haben.

Die rein mechanische Schädigung des myokardialen Zellverbands dürfte wohl das durch die Phosphat- und Enzymfreisetzung angedeutete Maß kaum überschreiten und kann insgesamt als gering veranschlagt werden. Insbesondere zeigen auch die geringen Freisetzungsraten der mitochondrialen GLDH und der bilokulären GOT an, daß die intrazelluläre Struktur anscheinend keine entscheidenden Alterationen erlitten hat.

Die Erklärung der hohen Kaliumfreisetzung ist hingegen nur auf der Basis einer funktionellen Schädigung der Zellmembran möglich.

Die intra-extrazellulären Konzentrationsgradienten für K^+ und Na^+ werden mit Hilfe des sog. aktiven Transports aufrechterhalten, d.h. Natrium- bzw. Kaliumionen, die entsprechend ihrem Konzentrationsgradienten in den Intra- bzw. Extrazellulärraum gelangt sind, werden unter Verbrauch von Energie entgegen den Konzentrationsgradienten wieder in den Extra- bzw. Intrazellulärraum transportiert (HODGKIN u. KEYNES (87)). Als Vermittler dieses ATP-verbrauchenden aktiven Transports hat SKOU (213) ein ATP-spaltendes Enzym gefunden, das durch Natrium und Kalium aktiviert wird (sog. Na-K-aktivierbare ATPase). Dieses Enzymsystem zeichnet sich nun u.a. durch hohe Temperatursensibilität aus (HODGKIN u. KEYNES (87), BURG u. ORLOFF (37), FRANKENHÄUSER u. MOORE (70), RUSSELL u. PEACH (199)).

Nach HODGKIN u. KEYNES (87) sowie FRANKENHÄUSER u. MOORE (70) verhält sich der Q_{10} -Wert des aktiven Transports von K^+ zu dem des passiven wie 3:1, so daß bei tiefen Temperaturen ein Ausgleich der Konzentrationsgradienten durch die passiven Flüsse zustandekommt, die hier den aktiven Trans-

port überwiegen. Die Zelle verliert Kalium an den Extrazellulärraum und nimmt aus diesem Natrium auf. Eng korreliert mit der Natriumaufnahme ist die Wassereinlagerung, mithin die Ausbildung eines Zellödems.

Zu entsprechenden Befunden gelangten BRENDL, REULEN, MESSMER et al. (1966 (31)) an Gehirn, Leber, Lunge und Niere, z.T. auch am Herz (REULEN et al. 1966 (189)) von Ratten in Oberflächenhypothermie bis zu 0°C , sowie MESSMER et al. (1966 (155)) an Gehirn, Herz und Leber von Hunden in Perfusionshypothermie bis 3°C und MENDLER (151) an Gehirnen von Ratten in Perfusionshypothermie.

Von KLEIN (106) wurden gleichlautende Veränderungen bei der hypothermen Perfusion (bis zu 2°C) von Rattenherzen mit Ringer-Lösung festgestellt.

Unsere eigenen Ergebnisse fügen sich in die zitierten Pathomechanismen und Befunde zwanglos ein: Einem Kaliumverlust von 9,1 % des gesamten intrazellulären Kaliums steht ein Ödem von 13,1 % gegenüber. Da wir keine Änderungen in der Natriumkonzentration unseres Perfusats feststellen konnten (vgl. 3.1.3.), muß es sich um ein isotones Ödem gehandelt haben, wie es auch schon von KLEIN (106) anhand von Messungen des Gewebsgehalts an Wasser und Kationen verifiziert werden konnte. Weiterhin konnte KLEIN zeigen, daß das Ödem etwa zu gleichen Teilen den Intrazellulärraum und das Interstitium betrifft. Unter Zugrundelegung dieser Befunde lassen sich aus unseren Messungen folgende Schlüsse ziehen:

Ein Ödem von 13,1 % entspricht bei einem Herzgewicht von 249 g einer Flüssigkeitsmenge von 32,7 ml. Da es sich um ein isotones Ödem handelt, werden mit dieser Wassermenge ca. 4,7 mMol Na^{+} aus dem Intravasalraum bewegt. Geht man mit KLEIN von der Tatsache aus, daß aus Gründen des osmotischen Gleichgewichts eine Gleichverteilung dieser Na^{+} -Ionen zwischen Interstitium und Intrazellulärraum stattfindet, so würden auf den Intrazellulärraum 2,35 mMol Na^{+} -Zunahme entfallen bei einem Kaliumverlust von 1,55 mMol. Setzt man Na^{+} -Zuwachs und K^{+} -Verlust zueinander in Be-

ziehung, so erhält man einen Quotienten von $1,55/2,35 = 0,66 \approx 2/3$, d.h. für zwei aus der Zelle gelangte Kaliumionen sind drei Natriumionen hineingelangt. Dies hinwiederum würde mit den Befunden von SEN u. POST (207) über die Stöchiometrie des aktiven Transports am Erythrozyten übereinstimmen; diese Autoren hatten postuliert, daß pro zwei in die Zelle transportierten Kaliumionen drei Natriumionen heraustransportiert werden. Bei einer hypothermiebedingten Inhibition der Na-K-aktivierbaren ATPase könnte man also von einer stärkeren Schädigung des Natriumauswärtstransports als des Kaliumeinwärtstransports ausgehen, womit auch die osmotischen Voraussetzungen für ein Nachfolgen des Wassers gegeben wären.

Die uns vorliegenden Messungen im Perfusat lassen sich somit durch den prinzipiellen Pathomechanismus einer kälteinduzierten Hemmung der Na-K-ATPase mit konsekutivem Überwiegen der passiven Flüsse schlüssig interpretieren. Einige Autoren sehen hierin sogar die Hauptproblematik bei der Organkonservierung (DOWNES et al. (58), MARTIN et al. (145)).

Die eingetretenen Störungen scheinen allerdings reversibel zu sein, denn aus Abb. 13 ist eine Abnahme des Herzgewichts nach Reperfusion zu entnehmen. Einer vollständigen Rückbildung des Ödems nach Wiederbelebung, insbes. der im parabiologischen Kreislauf, dürfte allerdings u.a. auch im Wege stehen, daß durch die Verwendung der Rollerpumpe Hämolyse eintritt und die entstehenden Mikropartikel durch Verlegung des Kapillarbettts Mikroinfarkte und erneutes Ödem des Myokards bewirken. Zu entsprechenden Befunden kam FEDER (62) bei der Untersuchung von hypotherm gelagerten Herzen im parabiologischen Präparat.

Verschiedene Autoren haben auch versucht, durch Verwendung von Lösungen mit einer der zytoplasmatischen entsprechenden Elektrolytzusammensetzung das intra-extrazelluläre Konzentrationsgefälle aufzuheben, so daß selbst bei stark gehemmtem aktiven Transport die passiven Flüsse nicht zum Tragen kommen können.

Entsprechende Untersuchungen liegen u.a. von COLLINS et al. (47,48) sowie PAUSESCU et al. (169) für die Niere und von ABOUNA et al. (2) für die Leber vor.

Eine Anwendung auf die Herzkonservierung wurde von GHUSSEN (76) und KLEIN (106) untersucht. GHUSSEN stellte bei der Konservierung von Rattenherzen durch Lagerung in auf 4°C gekühlten Konservierungslösungen unterschiedlichen Elektrolytgehalts fest, daß durch eine Umkehrung des physiologischen Na^+/K^+ -Verhältnisses auf 5/145 der Metabolit- und Elektrolytstatus am ehesten intakt erhalten wurde. Zudem schien in der Erholung der konservierten Herzen im parabiologischen Präparat die ATP-Resynthese schneller zu erfolgen.

KLEIN konnte bei Vorperfusion von Rattenherzen mit einem Perfusat von "zytoplasmatischer" Elektrolytzusammensetzung vor hypothermer Lagerung minimales Ödem bei guter Konservierung der physiologischen intrazellulären Elektrolytverhältnisse nachweisen.

Obwohl für das Herz unserer Kenntnis nach noch keine erfolgreichen Transplantationen nach Konservierung durch Perfusion mit "zytoplasmatischen" Perfusaten bekannt sind, ermutigen die Ergebnisse der genannten Autoren dazu, Versuche in dieser Richtung zu unternehmen.

4.3.3. Zur Problematik der Beurteilung der Funktions- tüchtigkeit

Die Frage nach der Funktionstüchtigkeit bzw. ihrer Beurteilung ist unter zwei Gesichtspunkten zu stellen:

- 1) Die retrospektive Beurteilung, d.h. die Frage, ob das Konservierungsverfahren geeignet war, dem Herzen die Funktionstüchtigkeit zu erhalten. Hierbei ist mehr der theoretisch experimentelle Aspekt angesprochen, da die Ergebnisse dieser retrospektiven Beurteilung zur Weiterentwicklung des Konservierungsverfahrens dienen sollen.
- 2) Die prospektive Beurteilung, d.h. die Frage, ob das

konservierte Herz nach orthotoper Transplantation die Kreislaufbelastung des Empfängers zu übernehmen imstande sein wird. Hierbei wird mehr vom praktisch-klinischen Gesichtspunkt ausgegangen mit dem Wunsch, schon vor Transplantation gewisse Garantien für die Qualität des Transplantats zu haben.

4.3.3.1. Die retrospektive Beurteilung - parabiotischer Kreislauf und Transplantation

Bei der retrospektiven Beurteilung des Konservierungserfolgs haben wir uns auf funktionelle Untersuchungen beschränkt, nämlich auf die Wiederbelebung der konservierten Herzen im parabiotischen Präparat und die orthotope Transplantation. Letztere wird, da ihrer Durchführung ja alle Konservierungsbemühungen gelten, immer der entscheidende Test für ein Konservierungsverfahren sein.

Um daneben aber auch eine eingehendere Untersuchung der Funktion des konservierten Herzens vornehmen zu können, haben wir uns der Wiederbelebung im parabiotischen Kreislauf bedient.

Untersuchungen an der isolierten Herzpräparation gehören zu den klassischen Methoden der Herzphysiologie und wurden auch schon in weitem Umfang und in verschiedenen Modifikationen zur Funktionsbeurteilung des konservierten Herzens herangezogen (4,38,88,120,134,174,177,235,243). Die von uns verwendete isolierte Herzpräparation (vgl. 2.2.3.2.) erlaubt es, unter gut zu standardisierenden Bedingungen die linksventrikuläre Myokardmechanik im isovolumisch arbeitenden Ventrikel in Abhängigkeit vom preload zu untersuchen. Als Vorteil der Anordnung ist anzusehen, daß störende Einflüsse ganz oder zumindest weitgehend auszuschalten sind:

- nervale Einflüsse kommen infolge der Denervierung des Herzens nicht in Betracht.
- humorale Einflüsse - insbesondere durch Katecholamin-ausschüttung des Blutspendertiers - lassen sich weit-

gehend reduzieren, wenn man für eine ausreichende Narkosetiefe und ein hinreichend großes Blutspendertier sorgt. Dann nämlich ist der Blutverlust, der für das Spendertier durch die Füllung des extrakorporalen Kreislaufsystems entsteht, relativ kleiner und entsprechend auch die reaktive Katecholaminausschüttung (62). In unserer Anordnung wurde die notwendige Blutabgabe noch zusätzlich durch Vorfüllung des extrakorporalen Kreislaufsystems mit Ringerlösung und Dextran vermindert.

- Veränderungen im Perfusionsdruck wurden durch Einstellung der Umdrehungszahl vermieden, womit ein entscheidender Störfaktor ausgeschaltet war (HAGL et al. (82)).

Trotz aller dieser Vorteile ist natürlich gegen unsere Präparation der Einwand zu erheben, daß das isovolumisch schlagende Herz nicht die physiologischen Verhältnisse exakt widerspiegelt.

Es soll in diesem Zusammenhang auch nicht diskutiert werden, inwieweit die beschriebene Präparation die Verhältnisse des in situ schlagenden Herzens zu repräsentieren vermag. In der vorliegenden Studie werden nur Funktionskurven von isolierten Herzen mit und ohne vorangehende Konservierung miteinander verglichen, wobei die Versuchsbedingungen in jedem Fall übereinstimmten. Präparationsbedingte Eigentümlichkeiten und Alterationen der Myokardfunktion betreffen sowohl die konservierten Herzen als auch die Kontrollgruppe. Sie gehen nur insofern in unsere Überlegungen ein, als aufgrund unserer Erfahrungen mit der orthotopen Transplantation konservierter Herzen versucht werden soll, einen Anhalt dafür zu finden, ob und unter welchen Bedingungen man vom Erfolg einer Wiederbelebung im parabiologischen System auf eine erfolgreich durchführbare orthotope Transplantation schließen darf.

Ein wichtiger Befund bei unseren Experimenten mit Wiederbelebung im parabiologischen Kreislauf war die Tatsache, daß die Herzen nach Reperfusion spontan defibrillierten. Demnach können die Elektrolytverschiebungen innerhalb der

Konservierungsphase immerhin nicht so gravierend gewesen sein, daß sie die Reizbildung und Reizleitung nach Reperfusion ernsthaft hätten alterieren können. Daneben ist auch an diemembranstabilisierende Wirkung der dem Perfusat zugesetzten Pharmaka (Procain, Chlorpromazin) zu denken. So stellte PROCTOR (183) fest, daß eine spontane Wiederaufnahme des Sinusrhythmus nach Konservierung erst in jenen Versuchen konstant zu beobachten war, in denen dem Perfusat Chlorpromazin zugesetzt worden war.

Ein Vergleich der Performancekurven konservierter und nicht konservierter Herzen macht eine Reduktion der maximal erreichbaren Spitzendrucke um etwa 15 % deutlich. Es zeigte sich jedoch kein Rechtsshift der Performancekurven konservierter Herzen, wie er von FEDER (62) nach einstündiger hypothermer Lagerung bei 4°C festgestellt und als Inotropieverminderung gedeutet wurde. Die Performancekurve der konservierten Herzen scheint vielmehr "gestaucht", d.h. der Bereich, innerhalb dessen durch eine Erhöhung des linksventrikulären Volumens mit konsekutiver Erhöhung des enddiastolischen Drucks ein Anstieg des Spitzendrucks zu erzielen war, wurde kleiner. Eine Erklärung dieses Phänomens könnte darin gesehen werden, daß durch das myokardiale Ödem bereits eine gewisse Vordehnung des Muskels stattgefunden hat, die die durch Ventrikelfüllung erzielbare einschränkt. Andererseits kann die ödembedingte Vordehnung nicht im Sinne einer Kontraktilitätserhöhung wirksam werden, da das Ödem zudem kontraktionsbehindernd wirkt. Dies würde auch zu einer Erklärung der - wenn auch nicht sehr großen - Abnahme der Spitzendruckwerte beitragen. Neben dieser mehr mechanisch akzentuierten Interpretation ist auch noch an Alterationen des myokardialen Stoffwechsels infolge von Läsionen der zellulären Ultrastruktur zu denken. BURDETTE u. ASHFORD (36) fanden bei Herzen, die in Hypothermie bei 17°C perfundiert worden waren ebenso wie bei solchen, die bei derselben Temperatur anoxisch gelagert worden waren, Veränderungen u.a. an den Mitochondrien (Verklebung des Spalts zwischen den Mitochondrien-

membranen, Änderungen der Matrix, leichte Veränderungen der Cristae) sowie intrazelluläres Ödem und leiteten Störungen des oxydativen Stoffwechsels aus diesen morphologischen Veränderungen ab.

FERRANS et al. (66) fanden bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen an Herzen, die sie bei 8 - 10°C mit kryopräzipitiertem Plasma perfundiert hatten, ebenfalls Schäden an den Mitochondrien und Schwellung des Sarkoplasmas und setzten das Ausmaß dieser Veränderungen in Beziehung zur Funktion nach Wiederbelebung. Demgegenüber fanden PROCTOR und COPELAND, deren Versuchsanordnung am ehesten der unseren vergleichbar ist, keine bedeutenden Veränderungen im lichtmikroskopischen (PROCTOR (178)) bzw. elektronenmikroskopischen Erscheinungsbild (COPELAND (51)), so daß eine Erklärung der Performanceveränderungen auf der Basis des Ödems wieder mehr in den Mittelpunkt rückt. Weitere interessante Aufschlüsse über die Wirkung des Ödems auf die Herzfunktion gibt auch eine Betrachtung der Compliance-diagramme (Abb. 16). Hervorzuheben ist, daß eine Complianceverminderung, i.e. eine Versteilerung des Graphen der Beziehung $L_{VedP} = f(L_{VV}/HW)$, nicht festzustellen ist.

Vielmehr ist der Graph nur parallel leicht in Richtung auf höhere L_{VedP} -Werte verschoben. Die Tatsache, daß wohl erhöhte enddiastolische Drucke, nicht aber eine erhöhte "Steifigkeit" festzustellen ist, veranlaßt uns, mit PROCTOR (184) zwischen dem - in Bezug auf die Funktionstüchtigkeit - peiorativ zu verwendenden Ausdruck "Ödem" und dem zunächst wertungsfreien Begriff "Gewichtszuwachs" zu unterscheiden. Tatsächlich haben wir festgestellt, daß z.T. relativ hohe Gewichtszunahmen mit einer weichen Konsistenz und guter Funktion zu vereinbaren waren.

Die Funktionsfähigkeit der nach Konservierung wiederbelebten Herzen erwies sich als von großer Stabilität (vgl. Abb. 15 und 16). Die Compliance ist nach 4 Stunden praktisch unverändert. Da die über längere Zeit hin durchgeführte parabolische Perfusion durch die anordnungsbedingte Bluttrau-

matisierung und Bildung von Mikroemboli zur Mikroinfarzierung und Ödematisierung beiträgt (FEDER (62), GAMBLE (74)), kommt es notwendigerweise zu einer Complianceverminderung. Unser Befund einer nahezu unverminderten Compliance kann eigentlich nur dadurch erklärt werden, daß der konservierungsbedingte Gewichtszuwachs nach Reperfusion in einem Umfang beseitigt wurde, der eine Kompensation der durch die parabiotische Perfusion gesetzten Schäden zuließ. Unter diesem Gesichtspunkt wird man auch davon ausgehen können, daß die Auslagerung des konservierungsbedingten Gewichtszuwachses in einem größeren Umfang erfolgt ist, als dies in Abb. 13 dargestellt wurde.

Die in Abb. 15 dargestellte Abnahme der Performance wird man wohl im Zusammenhang mit den o.g. Schäden durch das parabiotische Kreislaufsystem zu sehen haben.

Zusammenfassend ergibt sich, daß die Herzfunktion nach Konservierung zwar der frischer Herzen unterlegen war, daß man aber aufgrund der gemessenen Parameter von einer befriedigenden Funktion des konservierten Herzens auch nach orthotoper Transplantation ausgehen können müßte.

Die ersten Transplantationsexperimente waren gleichwohl Mißerfolge. Die Herzen verfärbten sich bei Reperfusion livide, flimmerten oder zeigten nur äußerst schwache Kontraktionen und waren hochgradig ödematös. Eine Übernahme der Kreislaufast war nicht möglich. Eine erste Erklärung der Diskrepanz zwischen den Befunden bei parabiotischer Perfusion und orthotoper Transplantation bestand für uns darin, daß bei der letzteren dem Herzen für die Dauer der Implantation, d.h. etwa für 60 Minuten, ein zusätzliches anoxisches Intervall zugemutet wurde, bei dem es sich langsam auf Zimmertemperatur erwärmte. Um den Einfluß dieses anoxischen Intervalls auf die Herzfunktion genauer zu untersuchen, lagerten wir drei Hundeherzen nach Entnahme aus der Konservierungseinheit noch zusätzlich eine Stunde ohne Perfusion. Es ergab sich eine deutliche Verschlechterung der Performance (vgl. Abb. 18 und 19). Um Spitzen-

drucke aufzubringen, die mit denen unmittelbar nach Konservierung wiederbelebter Herzen vergleichbar waren, mußten wesentlich höhere enddiastolische Vorspannungen in Kauf genommen werden. Zu ähnlichen Befunden kamen HAGL et al. (81) und FEDER (62) beim Vergleich der Performance-diagramme von isolierten Herzen im parabiologischen Präparat vor bzw. nach ischämischer Lagerung bei 4°C.

Weiterhin stellten wir eine Complianceverminderung i.e.S., d.h. eine Versteilerung in der Beziehung $LVP = f(LVW/HW)$ fest. Die Performancedeterioration hingegen war nicht dramatisch (vgl. Abb. 18 c), das Complianceverhalten zeigte sogar eine leichte Verbesserung (vgl. Abb. 19 c). Insgesamt war durch die genannten Befunde zwar eine gravierende Bedeutung der zusätzlichen Anoxiezeit zu verifizieren, die Transplantationsmißfolge waren gleichwohl damit nicht vollständig zu erklären.

Um die Bedingungen bei parabiologischer Perfusion und bei Transplantation noch besser in Einklang zu bringen, modifizierten wir als nächsten Schritt den Reperfusionsmodus in der in 2.2.4.3. beschriebenen Weise. Wir gingen dabei von der Überlegung aus, daß bei der schon beschriebenen erhöhten Kapillarpermeabilität (227) ein initial hoher Reperfusionsdruck zu einer schnellen Ödematisierung führen könnte, was in Einklang mit unseren Beobachtungen bei erfolglosen Transplantationen stand. Tatsächlich blieben bei langsamer Reperfusionseinleitung die genannten Veränderungen aus, die Herzen defibrillierten spontan und zeigten bald kräftige Kontraktionen, die eine Steigerung des Perfusionsdrucks auf physiologische Werte bzw. auf das Niveau des Systemdrucks der EKZ und Beendigung des Bypasses zuließen.

Damit war gezeigt, daß die konservierten Herzen auch nach orthotoper Transplantation wiederbelebbar waren und den Kreislauf des Empfängers aufrechterhalten konnten. Die Diskrepanz zwischen den Befunden bei parabiologischem Kreislauf und orthotoper Transplantation war durch Einhaltung

geeigneter und vergleichbarer Versuchsbedingungen beseitigt. Gleichzeitig war aber auch recht eindrucksvoll demonstriert, daß in das Ergebnis bei Funktionsbeurteilung konservierter Herzen im orthotopen Transplantat in entscheidendem Umfang auch Faktoren Eingang finden, die mit der Konservierung i.e.S. nichts zu tun haben. Hierunter wären u.a. die Geschwindigkeit, mit der der Implantationsvorgang durchgeführt wird, zu nennen, da natürlich eine Verkürzung der Ischämiezeit deren deletäre Folgen reduziert und die Erfolgsaussichten verbessert. Weiterhin haben wir den Reperfusionismus als wichtigen Faktor erkannt. Zu nennen bliebe noch die postoperative Therapie, wobei die Beherrschung der Blutungen mit großen Schwierigkeiten verbunden war, da uns für Hunde ja keine Blutkonserven, Thrombozytenkonzentrate etc. zur Verfügung standen.

4.3.3.2. Möglichkeiten einer prospektiven Beurteilung der Funktionstüchtigkeit konservierter Herzen

Für eine prospektive Beurteilung der zu erwartenden Myokardfunktion sind u.a. morphologische (36,66) histochemische (21,132,149) und klinisch-chemische (85,86,95) Kriterien herangezogen worden.

Innerhalb unseres Konservierungssystems erschien uns die letztgenannte Möglichkeit als die günstigste, da ihre Durchführung keinerlei Eingriff an dem zu konservierenden Organ erfordert und die Bestimmung der entsprechenden Parameter - etwa freigesetzte Enzyme. Elektrolyte oder Metabolite - schnell und mit standardisierten Methoden durchzuführen ist.

Wir haben deshalb versucht, aus den klinisch-chemischen Werten, die bei unseren Versuchen zur Beurteilung der Zellintegrität und des Stoffwechsels routinemäßig bestimmt werden, Indikatoren für die Lebensfähigkeit des Organs herauszuarbeiten (vgl. 3.6., Tab. 7). Als einziger prognostisch aussagekräftiger Parameter hat sich dabei der Laktat Spiegel im Perfusat herausgestellt.

In Abb. 41 finden wir bei dem Zeitverlauf des Laktatspiegels bei Konservierung vor erfolgreichen Transplantationen das typische Verhalten: Ein initialer Anstieg wird gefolgt von einem leichten Abfall, der auf eine Metabolisierung des Laktats durch das - lebensfähige - Myokard zurückzuführen ist. Dabei bleibt die Laktatkonzentration auf einem konstanten, niedrigen Spiegel. Hingegen ist bei nicht lebensfähigen Herzen ein kontinuierliches Ansteigen des Laktats festzustellen, in ähnlicher Weise, wie dies auch schon bei den Versuchen zur Optimierung der Konservierungsrandbedingungen bei extrem niedrigen pH- bzw. Perfusionsdruckwerten zu finden war. Insofern fand unser empirischer Befund, daß kontinuierlich ansteigende Laktatspiegel im Perfusat auf eine schlechte Funktion hinweisen, durch die statistische Untersuchung eine Bestätigung. Beobachtungen, die damit in Übereinstimmung stehen, werden auch von SUAUDEAU (225) und von PROCTOR (184) berichtet. JONES u. PROCTOR (1974 (95)) haben sogar in einer jüngeren Veröffentlichung den Versuch unternommen, anhand der Metabolisierung exogen zugeführten Laktats den Zustand des konservierten Herzens zu überprüfen. Wenngleich sich hierbei signifikante Unterschiede nicht nachweisen ließen und die Laktatmetabolisierung somit als prognostischer Parameter nicht zu verwenden sein dürfte, scheint sich mit der Kontrolle der Laktatproduktion eine Möglichkeit zur Aussonderung funktionell minderwertiger Transplantate und damit zur erfolgreicheren Transplantation konservierter Herzen zu eröffnen.

5. Z U S A M M E N F A S S U N G

- 1) In der vorliegenden Studie wurde ein kompaktes Gerät zur Konservierung von Spenderherzen durch intermittierende Perfusion der Koronarien in Hypothermie bei 4°C vorgestellt. Als Perfusionsmedium wurde eine erythrozytenfreie, die Elektrolyte in extrazellulären Konzentrationen enthaltende, wäßrige Lösung verwendet. Einzelparameter der Konservierung, wie pH des Perfusats, Perfusionsdruck und Temperatur waren variabel und auf die jeweiligen Sollwerte präzise einstellbar. Mit dieser Anordnung wurden 50 Versuche zur 24-Stunden-Konservierung von Hundeherzen durchgeführt.

- 2) 19 Hundeherzen wurden unter gleichbleibenden Bedingungen (pH 7,4 / Perfusionsdruck 20 cm H₂O) konserviert. Im Verlauf der Konservierungsphase vorgenommene Bestimmungen des O₂- und CO₂-Partialdrucks sowie der Glukose- und Laktatkonzentration im Perfusat ergaben Anhalte dafür, daß das Organ aerob metabolisierte (maximale Laktatkonzentration 0,61 mMol/l nach 3 Stunden, anschließend konstanter Abfall auf 0,39 mMol/l bis zur 24. Stunde). Zur Beurteilung von Art und Umfang zellulärer Schäden wurde die Freisetzung von zytoplasmatischen (CPK, α -HBDH), bilokulären (GOT) und mitochondrialen (GLDH) Enzymen durch Bestimmung ihrer Aktivitäten im Perfusat ermittelt.

Die Freisetzung belief sich (in % des myokardialen Gesamtgehalts am betreffenden Enzym) auf 0,24 (CPK), 0,38 α -HBDH), 0,22 (GOT) bzw. 0,47 (GLDH).

Im Verlauf der Konservierungsphase nahm das Gewicht der konservierten Herzen um 13,1 % zu. Der Kaliumspiegel des Perfusats stieg um 1,02 mMol/l, woraus ein Verlust an intrazellulärem Kalium von 9,1 % des Gesamtgehalts errechnet wurde. Die Natriumkonzentration des Perfusats blieb unverändert. Der Gewichtszuwachs und die Elektrolytverschiebung wurden als Kälteödem auf der Basis einer

kälteinduzierten Hemmung des aktiven Kationentransports diskutiert.

- 3) Die Funktionsanalyse nach Wiederbelebung von 11 der konservierten Herzen erfolgte bei 37°C im parabiologischen Präparat nach Anschluß an den Kreislauf eines weiteren Versuchstiers. Die Herzen arbeiteten dabei isovolumisch gegen einen flüssigkeitsgefüllten Ballon im linken Ventrikel, wobei durch Variationen des Ballonvolumens Ventrikelfunktionskurven nach Frank-Starling (Performance- und Compliancediagramme) erstellt wurden.

Das Mittel der maximal erreichbaren linksventrikulären Spitzendrucke (ohne adrenerge Stimulation) betrug 135 mm Hg, was eine Minderung gegenüber dem nichtkonservierten Normkollektiv von 15 % bedeutet.

Die maximal tolerierte Volumenaufnahme des linken Ventrikels war im Vergleich zum Normkollektiv um 33 % vermindert, Unterschiede in der Compliance (= Differentialquotient: enddiastolischer Druck / rel. linksventrikuläres Volumen) ergaben sich nicht.

Nach vierstündiger Dauer der parabiologischen Perfusion ergab sich eine Abnahme der maximal erreichbaren linksventrikulären Spitzendrucke um 8 %, während relative Volumenaufnahme und Compliance unverändert waren.

- 4) Zwölf Herzen wurden nach 24-stündiger Konservierung mit einem Perfusionsdruck von 20 cm H₂O und einem Perfusat-pH von 7,4 (8 Herzen) bzw. 7,2 (4 Herzen) orthotop transplantiert. In sechs Fällen konnte eine Übernahme der Kreislaufbelastung des Empfängertiers durch das konservierte Herz für 7 Minuten bis 7 3/4 Stunden erzielt werden. Der Einfluß der Anoxiezeit bei der Transplantation auf die postoperative Funktion wurde dadurch quantifiziert, daß konservierte Herzen vor Wiederbelebung im parabiologischen Präparat eine Stunde bei Zimmertemperatur anoxisch gelagert wurden: Die anoxisch gelagerten Herzen zeigten im Performancediagramm eine Funktionseinbuße um 20 - 30 %, im Compliancediagramm sogar um 90 % gegen-

über sofort wiederbelebten Herzen.

- 5) In einer weiteren Versuchsserie wurden der pH des Perfusats zwischen 6,1 und 7,8 und der Perfusionsdruck zwischen 5 und 45 cm H₂O systematisch variiert, um ein Optimum für diese Größen zu ermitteln. Aus dem Verhalten biochemischer Parameter (vgl. 2)) und der Funktionsanalyse (vgl. 3)) wurden pH-Werte von 7,2 - 7,4 und Perfusionsdrucke von 15 - 20 cm H₂O als günstigste Bereiche ermittelt.
- 6) Als prognostischer Parameter für den Erfolg bei orthotoper Transplantation konservierter Herzen konnte aufgrund eines statistischen Vergleichs je 6 erfolgreicher und erfolgloser Transplantationen der Laktatspiegel im Perfusat ermittelt werden: Die Laktatwerte im Perfusat waren bei den "schlechten" Herzen nach der Konservierung 8 mal höher als bei den "guten".

Die vorgelegten Untersuchungen zeigen, daß mit Hilfe der asanguinen Perfusion in tiefer Hypothermie nach 24-stündiger Konservierung funktionsfähige Transplantate zu erhalten sind. Jedoch kann eine Zuverlässigkeit, die klinischen Ansprüchen genügt, nur durch weitere Verbesserungen der Konservierungstechnik erzielt werden.

6. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. ABBOTT, W.M., J.L. WEINERTH
The perfusion of isolated whole organs
Cryobiology 8 : 113 (1971)
2. ABOUNA, G.M., R. HURWITZ, B. SERROU
Organ preservation by Collins' solution
Lancet 1 : 1076 (1971)
3. ALMOND, C.H., H. ANIDO, A. SEABER, R. YOUNG,
J.W. MacKENZIE
Heart preservation utilizing hyperbaric oxygen and
hypothermia
Amer. Heart J. 69 : 425 (1965)
4. ANCONA, E., P. FRASSON, A. PERACCHIA, G. TONINI,
C. TREMOLADA
The evaluation of rat heart revival in different
conditions of preservation
Europ. Surg. Res. 2 : 88 (1970)
5. ANGELL, W.W., N.E. SHUMWAY
Resuscitative storage of the cadaver heart
Surg. Forum 17 : 224 (1966)
6. ANGELL, W.W., L. RIKKERS, E. DONG, N.E. SHUMWAY
Canine cadaver heart procurement, resuscitation and
storage
In: NORMAN J.C. (Hrsg.): Organ perfusion and preser-
vation, Appleton-Century-Crofts, New York (1968) p.363
7. ANGELL, W.W., E. DONG, N.E. SHUMWAY
Four-day storage of the canine cadaver heart
Rev. Surg. 25 : 369 (1968)

8. ANGELL, W.W., L. RIKKERS, E. DONG, N.E. SHUMWAY
Organ viability with hypothermia
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 58 : 619 (1969)
9. ANSTADT, G.L., P. SCHIFF, A.E. BAUE
Prolonged circulatory support by direct mechanical
ventricular assistance
Trans. Amer. Soc. Artif. Intern. Organs 12 : 72 (1966)
10. ATHREYA, B.H., L.L. CORIELL, A.E. GREENE, H.B. LEHR
Preservation of functioning rabbit hearts in vitro.
Preliminary communication on a new approach
Arch. Surg. 97 : 947 (1968)
11. ATHREYA, B.H., L.L. CORIELL, A.E. GREENE, H.B. LEHR
In vitro preservation of functioning rabbit hearts
in a depolarized state at 4°C
Cryobiology 5 : 403 (1969)
12. ATTAI, L.A., F.J. VEITH, S. FURMAN, A. DENIZE,
S.J. BOLEY, G. ROBINSON, M.L. GLIEDMAN
Intracorporeal cadaver organ preservation by
mechanical ventricular assistance
Surg. Forum 19 : 202 (1968)
13. BAILEY, L.L., W.M. HUSE, E.E. WAREHAM, R.J. WAGNER,
B.J. WELDON, L.L. SMITH
Experimental technique for perfusion of the canine
donor heart in vitro
Arch. Surg. 100 : 129 (1970)
14. BARCROFT, J., W.E. DIXON
Gaseous metabolism of the mammalian heart
J. Physiol. (London) 35 : 182 (1907)

15. BARNARD, C.N.
What we have learnt about heart transplants
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 56 : 457 (1968)
16. BARNARD, C.N.
Human cardiac transplantation: An evaluation of the
first two operations performed at the Groote Schuur
Hospital, Cape Town
Amer. J. Cardiol. 22 : 584 (1968)
17. BARNER, H.B.
Perfusion and freezing of the rat heart
In: NORMAN J.C. (Hrsg.): Organ perfusion and preser-
vation, Appleton-Century-Crofts, New York (1968) p.717
18. BARNER, H.B., M. JELLINEK, V.L. WILLMAN, C.R. HANLON
Cardiac perfusion with Dextran-Dimethyl-Sulfoxide
for cardiac preservation
J. Surg. Res. 8 : 384 (1968)
19. BARSAMIAN, E.M., S.W. JACOB, S.C. COLLINS, O.E. OWEN
The transplantation of dehydrated supercooled hearts
Surg. Forum 10 : 100 (1959)
20. BAUE, A.E., E.T. TRAGUS, G.L. ANSTADT, W.S. BLAKEMORE
Circulatory support by mechanical cardiac massage in
potential donors for organ transplantation
in: NORMAN J.C. (Hrsg.): Organ perfusion and preser-
vation, Appleton-Century-Crofts, New York (1968) p.425
21. BEDDERMANN, C.
Untersuchungen mit einem Tetrazolium-Schnelltest zur
Beurteilung der Vitalität von Leichenorganen
Bruns Beitr. Klin. Chir. 218 : 720 (1971)

22. BELL, P.R.F., R.O. QUIN, K.C. CALMAN
Donor pretreatment and organ preservation
Transplant. Proc. 6 : 245 (1974)
23. BELZER, F.O., B.S. ASHBY, J.E. DUNPHY
24-hour and 72-hour preservation of canine kidneys
Lancet 2 : 536 (1967)
24. BELZER, F.O., B.S. ASHBY, J.S. HUANG, J.E. DUNPHY
Etiology of rising perfusion pressure in isolated
organ perfusion
Ann. Surg. 168 : 382 (1968)
25. BELZER, F.O., B.S. ASHBY, R.E. MAY
Isolated perfusion of whole organs
In: NORMAN J.C. (Hrsg.): Organ perfusion and preservation, Appleton-Century-Crofts, New York (1968) p.3
26. BERCOT, M., M. DE MENDONCA, F. MORALES, M. BOUVIER,
J. BIDAULT, D. MASSON-PIERRE
Acidosis protection during ischemic myocardial preservation
10 th Congress, European Society for Experimental
Surgery, Paris, 1975
27. BERGMAYER, H.U.
Methoden der enzymatischen Analyse
Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße
28. BLOCH, J.H., W.G. MANAX, Z. EYAL, R.C. LILLEHEI
Heart preservation in vitro with hyperbaric
oxygenation and hypothermia
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 48 : 969 (1964)

29. BONHOEFFER, K.
Der Sauerstoffverbrauch des normo- und hypothermen
Hundeherzens vor und während verschiedener Formen
des induzierten Herzstillstands
Bibl. cardiol. Fasc. 18 (1967)
30. BREITHARDT, G., H.-J. KNIERIEM, F.J. SCHUIER,
R. HEROLD, G. HISCHBETH, M. SIESS
Elektronenmikroskopische Untersuchungen des Meer-
schweinchenvorhofs nach Konservierung mit verschie-
denen Gasen und Gasgemischen
Virchows Arch. Abt. B Zellpath. 10 : 210 (1972)
31. BRENDDEL, W., CH. MÜLLER, H.J. REULEN, K. MESSMER
Elektrolytveränderungen in tiefer Hypothermie
II. Beziehungen zur klinischen und biologischen
Überlebenszeit
Pflügers Arch. ges. Physiol. 288 : 220 (1966)
32. BRETSCHNEIDER, H.J.
Sauerstoffbedarf und -versorgung des Herzmuskels
Verh. dtsh. Ges. Kreisl. Forsch. 27 : 32 (1961)
33. BRETSCHNEIDER, H.J.
Überlebenszeit und Wiederbelebungszeit des Herzens
bei Normo- und Hypothermie
Verh. dtsh. Ges. Kreisl. Forsch. 30 : 11 (1964)
34. BROWN, A.H., N.R. NILES, M.V. BRAIMBRIDGE, W.G. AUSTEN
Preservation of the myocardium by means of cold
physiological solutions, as assessed by ventricular
function, histochemistry and birefringence
J. Surg. Res. 14 : 46 (1973)

35. BUI-MONG-HUNG, M. VIGANO, J. LEANDRI, D. LAURENT
Influence of decompression procedure on heart viability after long-term storage using hyperbaric oxygen and hypothermia
Nature 219 : 1175 (1968)
36. BURDETTE, W.J., T.P. ASHFORD
Response of myocardial fine structure to cardiac arrest and hypothermia
Ann. Surg. 158 : 513 (1963)
37. BURG, M.B., J. ORLOFF
Active cation transport by kidney tubules at 0°C
Amer. J. Physiol. 207 : 983 (1964)
38. CALMAN, K.C., S. MacPHERSON, R. WOOD, P.R.F. BELL
The perfused rat-heart as a model for tissue storage and viability
Brit. J. Surg. 57 : 380 (1970)
39. CALMAN, K.C., P.R.F. BELL
Experimental organ preservation
Transplant. Proc. 3 : 647 (1971)
40. CALMAN, K.C., P.R.F. BELL
Experimental organ preservation
Brit. J. Surg. 59 : 758 (1972)
41. CALMAN, K.C., R.O. QUIN, R.F.M. WOOD, P.R.F. BELL
Solutions for short-term organ preservation
Brit. J. Surg. 59 : 900 (1972)
42. CARREL A., C.A. LINDBERGH
The culture of organs
Paul B. Hoeber Inc., New York (1938)

43. CAVES, P.K., E. DONG
Modified technique for orthotopic cardiac trans-
plantation in dogs
J. Surg. Res. 15 : 100 (1973)
44. CHILDS, J.W., R.R. LOWER
Preservation of the heart
Progr. Cardiovasc. Dis. 12 : 149 (1969)
45. CLAES, G., I. BLOHME, J. ENGESET
Simplifications in the use of continuous perfusion
for renal preservation
Transplant. Proc. 6 : 261 (1974)
46. CLEVELAND, R.J., R.R. LOWER
Transplantation of canine cadaver hearts after
short-term preservation
Transplantation 5 : 904 (1967)
47. COLLINS, G.M., M. BRAVO-SHUGARMAN, P.I. TERASAKI
Kidney preservation for transportation
Lancet 2 : 1219 (1969)
48. COLLINS, G.M., L.C.J. HARTLEY, G.J.A. CLUNIE
Kidney preservation for transportation. Experimental
analysis of optimal perfusate composition
Brit. J. Surg. 59 : 187 (1972)
49. COOLEY, D.A., J.R. LATSON, A.S. KEATS
Surgical considerations in the repair of ventricular
and atrial defects utilizing cardiopulmonary bypass
Surgery 43 : 214 (1958)
50. COOLEY, D.A., R.D. BLOODWELL, G.L. HALLMAN, J.J. NORA
Transplantation of the human heart
J. Amer. Med. Assoc. 205 : 479 (1968)

51. COPELAND, J.G., M. JONES, R. SPRAGG, E.B. STINSON
In vitro preservation of canine hearts for 24-28
hours followed by successful orthotopic transplantation
Ann. Surg. 178 : 687 (1973)
52. COPELAND, J.G., E.B. STINSON
Evaluation of hypothermic perfusion for 24-hour
preservation of canine hearts
Transplant. Proc. 6 : 311 (1974)
53. DALTON, M.L., R.T. McCARTY, K.E. WOODWARD, T.G. BARILA
The army artificial heart pump. II. Comparison of
pulsatile and nonpulsatile flow
Surgery 58 : 840 (1965)
54. DEMIKHOV, V.P.
Experimental transplantation of vital organs
Consultants Bureau, New York (1962) p. 60
55. DIETHRICH, E.B., J.E. LIDDICOAT, M.E. DeBAKEY
Extracorporeal preservation of the beating heart
Circulation 38 (Supl. VI) : 66 (1968)
56. DIETHRICH, E.B., J.E. LIDDICOAT, M.E. DeBAKEY
Cardiac preservation
Bull. Soc. Int. Chir. 29 : 257 (1970)
57. DiPAOLA, M., L. FORLIVESI, L. ANGELINI, F. TONELLI
Sperimentazione e possibilità d'impiego del preparato
cuore-pulmoni autoperfuso
Arch. Chir. Torac. Cardiovasc. 26 : 327 (1969)
58. DOWNES, G.L., D.R. MARTIN, D.F. SCOTT, F.O. BELZER
Cold sensitivity of active cation transport - a major
problem in liver and heart preservation
Surg. Forum 22 : 256 (1971)

59. DUDZIAK, R., A. FOURNELL, O.A. PANTKE
Vergleich der Wirkung von Kaliumchlorid und K-Mg-Aspartat auf den Sauerstoffverbrauch und den Kaliumgehalt am isolierten Rattenherzen nach Anoxie
In: Kalium-Magnesium-Aspartat, Kolloquium Düsseldorf 1969, F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart 1970
60. DUPREE, E.L., M. MILLS, R. CLARK, K.W. SELL
Xenogeneic storage of primate hearts
Transplant. Proc. 1 : 840 (1969)
61. EYAL, Z., W.G. MANAX, J.H. BLOCH, R.C. LILLEHEI
Utilization of chlorpromazine in heart storage and its combined use with hyperbaric oxygen and hypothermia
Surg. Gynec. Obstet. 120 : 1237 (1965)
62. FEDER, B.
Linksventrikuläre Myokardmechanik in der Erholung nach hypothermer Konservierung des Hundeherzens
München, Med. Diss. 1975
63. FEEMSTER, J.A., P. GANNON, R.C. LILLEHEI
In vitro preservation of canine heart for allotransplantation
Amer. J. Cardiol. 23 : 620 (1969)
64. FEEMSTER, J.A., R.C. LILLEHEI
Hypothermic-hyperbaric pulsatile perfusion for preservation of the canine heart
Transplant. Proc. 1 : 138 (1969)
65. FERRANS, V.J., L.M. BUJA, S. LEVITSKY, W.C. ROBERTS
Effects of hyperosmotic perfusate on ultrastructure and function of the isolated canine heart
Lab. Invest. 24 : 265 (1971)

66. FERRANS, V.J., L.M. BUJA, S. LEVITSKY, W.H. WILLIAMS,
C.L. McINTOSH, W.C. ROBERTS
Cardiac Preservation: A morphologic study
In: BAJUSZ, RONA (Hrsg.): Myocardiology, Urban &
Schwarzenberg, München, Berlin, Wien (1972) p. 351
67. FONKALSRUD, E.W., D.M. RANGEL, J. BYFIELD,
W. BRUCKNER, G.H. STEVENS, A. DINBAR
Hepatic preservation with chlorpromazine and phenoxy-
benzamine; application to liver transplantation
Surgery 66 : 23 (1969)
68. FOURCADE, C., W. SCHILT, G. DUREAU, C. GUILLAUD,
J. DESCOTES
Perfusion réanimatrice d'organes des cadavres du
coeur en particulier
Presse Med. 76 : 263 (1968)
69. FRANK, O.
Zur Dynamik des Herzmuskels
Z. Biol. 32 : 370 (1895)
70. FRANKENHAUSER B., L. MOORE
The effect of temperature on the Na^+ and K^+ permea-
bility changes in myelinated fibres of *Xenopus Laevis*
J. Physiol. (London) 169 : 431 (1963)
71. FRÖHLICHER, R.
Untersuchungen über die Wirkungen des Acetylcholins
auf das elektrisch zum Flimmern gebrachte Säugetier-
herz
Helv. physiol. pharmacol. Acta 3 : 231 (1945)
72. FUHRMANN, F.A.
The physiology of induced hypothermia
Washington 1956

73. FUHRMANN, G.J., F.A. FUHRMANN
Effect of temperature on metabolism of glucose in vitro
Amer. J. Physiol. 207 : 849 (1964)
74. GAMBLE, W.J., J. STARK, C.G. LaFARGE, R.G. MONROE
Ventricular performance in the isolated, supported
dog heart observed over a period of 24 hours
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 63 : 906 (1972)
75. GARZON, A.A., E. KORNBERG, J. PANGAN, J.H. STUCKEY,
K.E. KARLSON
Myocardial contractility after 24 hours of hypothermic
(4°C) storage
Cryobiology 5 : 347 (1969)
76. GHUSSEN, F.
Der Einfluß der Na⁺- und K⁺-Konzentrationen in den
Konservierungslösungen auf den Elektrolyt- und Ener-
giestoffwechsel des Rattenmyokards während Konser-
vierung und nach Wiederbelebung
München, Med. Diss. 1974
77. GIRON, F., W.C. BIRTWELL, H.S. SOROFF, R.A. DETERLING
Hemodynamic effects of pulsatile and nonpulsatile flow
Arch. Surg. 93 : 802 (1966)
78. GRIEPP, R.B., E.B. STINSON, W.W. ANGELL, E. DONG,
N.E. SHUMWAY
Hypothermic preservation of the canine heart
Transplant. Proc. 6 : 315 (1974)
79. GRUNDMANN, R., M. RAAB, E. MEUSEL, R. KIRCHHOFF,
H. PICHLMAIER
Analysis of the optimal perfusion pressure and flow
rate of the renal vascular resistance and oxygen
consumption in the hypothermic perfused kidney
Surgery 77 : 451 (1975)

80. HAGL, S.
Unveröffentlichte Ergebnisse
81. HAGL, S., K. BOERNIKOEL, B. FEDER, N. MAYR, N. MENDLER,
F. SEBENING
Cardiac performance after one hour's ischemia at 4°C
Arzneim.-Forsch. 24 : 961 (1974)
82. HAGL, S., K.L. NEUHAUS, J.R. HINGLAIS, N. MAYR,
H. MEISNER, F. SEBENING
Der Einfluß des koronaren Perfusionsdrucks auf die
Druck-Volumenbeziehung und die Kontraktilität des
linken Ventrikels
Thoraxchirurgie 22 : 300 (1974)
83. HAGL, S., W. HEIMISCH, H. MEISNER, R. ERBEN,
D. FRANKLIN, F. SEBENING
Ultraschallverfahren zur direkten Erfassung der
regionalen Myokardfunktion
Thoraxchirurgie 23 : 291 (1975)
84. HEIMISCH, W., S. HAGL, H. MEISNER, D. FRANKLIN,
W.S. KEMPER
Aufzeichnung lokaler Myokardfunktionen nach dem
Ultraschallaufzeit-Prinzip
Biomed. Techn. 20 (Ergänz.bd.) : 135 (1975)
85. HERFARTH, C., C. HIRSCHHÄUSER
Biochemische Kriterien zur Konservierung von Organen
Langenbecks Arch. klin. Chir. 322 : 1124 (1968)
86. HERFARTH, C., J. STAIB
Biochemische Untersuchungen zur Organkonservierung
Bull. Soc. Int. Int. Chir. 30 : 1 (1971)

87. HODGKIN, A., R.D. KEYNES
Active transport of cations in giant axons from
Sepia and Loligo
J. Physiol. (London) 128 : 28 (1955)
88. HOLDEFER, W.F., W.S. EDWARDS
Ventricular performance characteristics in a meta-
bolically supported isolated heart preparation: a
model for evaluating cardiac storage methods
Surg. Forum. 19 : 225 (1968)
89. HOLDEN, J.T.
Amino acid pools
Elsevier, Amsterdam, 1962
90. HOLLENBERG, M., R. PRUETT, A. THAL
Vasoactive substances liberated by prolonged bubble
oxygenator
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 45 : 402 (1963)
91. HUMPHRIES, A.L.
Problems of organ preservation. Organ preservation:
A review
Transplantation 5 : 1138 (1967)
92. HUTSON, D.G., R.R. RUTLEDGE, F. GOLLAN
Perfusion of isolated hearts with emulsions of
plant oils
In: NORMAN J.C. (Hrsg.): Organ perfusion and preser-
vation, Appleton-Century-Crofts, New York (1968) p.77
93. ISSELHARD, W., H. MERGUET, J. AENGENVOORT
Vergleich des Herzstoffwechsels bei verschiedenen
Methoden des künstlichen Herzstillstands
Pflügers Arch. ges. Physiol. 286 : 336 (1965)

94. JACOB, S.W., R.D. ROBERTSON
The storage of organs for transplantation
Surg. Clin. N. Amer. 49 : 553 (1969)
95. JONES, G.R., E. PROCTOR
Non-utilization of succinate and metabolism of
lactate as non-invasive criteria of viability in
the isolated perfused canine heart at 4°C
Experientia (Basel) 30 : 236 (1974)
96. KAMIYAMA, T.M., W.R. WEBB, R.R. ECKER
Preservation of the anoxic heart with a metabolic
inhibitor and hypothermia
Arch. Surg. 100 : 596 (1970)
97. KAROW, A.M., W.R. WEBB
Cardiac storage with glycerol at zero centigrade
Arch. Surg. 83 : 719 (1961)
98. KAROW, A.M., W.R. WEBB
Tissue freezing: A theory for injury and survival
Cryobiology 2 : 99 (1965)
99. KAROW, A.M., W.R. WEBB
Principles and problems of hypothermic organ
preservation
Surg. Gynec. Obstet. 119 : 609 (1965)
100. KAROW, A.M., W.R. WEBB, J.E. STAPP
Preservation of hearts by freezing
Arch. Surg. 91 : 572 (1965)
101. KAROW, A.M., M. SHLAFLER
Ultrastructural and functional effects of freezing
rat hearts to -10°C and -20°C without a cryo-
protectant
Trans. Amer. Soc. Artif. Intern. Organs 17 : 53 (1971)

102. KHAN, A.W., E. DAVIDKOVA, L. VAN DEN BERG
On cryodenaturation of chicken myofibrillar proteins
Cryobiology 4 : 184 (1968)
103. KIPNIS, D.M., E. HELMREICH, C.F. CORI
Studies of tissue permeability. IV. The distribution
of glucose between plasma and muscle
J. Biol. Chem. 234 : 165 (1959)
104. KIRCHHOFF, P.G.
Experimentelle Untersuchungen zur Konservierung
des Herzens
Habilitationsschrift, Göttingen (1970)
105. KIRSCH, U.
Anwendung von Aspartaten bei dem ischämischen Herz-
stillstand
In: BEER R., U. FINSTERER (Hrsg.): Biochemische
Eigenschaften und Möglichkeiten der klinischen
Anwendung von Kalium-Magnesium-Aspartat
Arzneim.-Forsch., 22. Beiheft, p. 73
106. KLEIN, H.P.
Der Einfluß modifizierter hypothermer Lagerungs-
verfahren auf die Erholungsfähigkeit von Energie-
und Elektrolytstoffwechsel
München, Med. Diss. 1975
107. KOGA, Y., H.E. CARSTENSEN, E. SUJANSKY, A. KANTRO-
WITZ
Resuscitation and preservation of canine cadaver
hearts
Trans. Amer. Soc. Artif. Intern. Organs 14 : 140 (1968)

108. KONDO, Y., F.O. GRÄDEL, P.-A. CHAPTAL, W. MEIER,
H.R. COTTLE, A. KANTROWITZ
Immediate and delayed orthotopic homotransplantation
of the heart
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 50 : 781 (1965)
109. KRAMER, K. (Hrsg.)
Vorlesungen über Allgemeine Physiologie
München, 1973
110. KROGH, A.
The rate of diffusion of gases through animal tissues,
with some remarks on the coefficient of invasion
J. Physiol. (London) 52 : 391 (1919)
111. KÜBLER, W.
Nutzbare Ischämiedauer des Herzens in Abhängigkeit
von der energetischen Ausgangslage des Myocards,
der Kardioplegieform und der Temperatur
Langenbecks Arch. klin. Chir. 319 : 648 (1967)
112. LACOMBE, M., J.P. CACHERA, BUI-MONG-HUNG,
M. VIGANO, D. LAURENT, C.H. DUBOST
Orthotopic homotransplantation of preserved hearts
in dogs. Experimental data
J. Cardiovasc. Surg. 8 : 298 (1967)
113. LAM, C.R., T. GAHAGAN, A. LEPORE
Induced cardiac arrest for intracardial surgical
procedures
J. thorac. Surg. 30 : 620 (1955)
114. LANGENDORFF, O.
Untersuchungen am überlebenden Säugethierherzen
Pflügers Arch. ges. Physiol. 61 : 291 (1895)

115. LANGENDORFF, O.
Untersuchungen am Überlebenden Säugethierherzen,
II. Abhandlung: Über den Einfluß von Wärme und
Kälte auf das Herz der warmblütigen Thiere
Pflügers Arch. ges. Physiol. 66 : 355 (1897)
116. LARGIADER, F., W.G. MANAX, G.W. LYONS, R.C. LILLEHEI
In vitro preservation of canine heart and lung
Arch. Surg. 91 : 801 (1965)
117. LARGIADER, F.
Organ-Transplantation
Thieme, Stuttgart, 1966
118. LARGIADER, F.
Organkonservierung
Langenbecks Arch. klin. Chir. 322 : 509 (1968)
119. LEE, W.H., D. KRUMHAAR, E.W. FONKALSRUD,
O.A. SCHJEIDE, J.V. MALONEY
Denaturation of plasma proteins as a cause of
morbidity and death after intracardiac operations
Surgery 50 : 29 (1961)
120. LEVITSKY, S., W.H. WILLIAMS, D.E. DETMER,
C.L. McINTOSH, A.G. MORROW
Functional evaluation of the preserved heart
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 60 : 625 (1970)
121. LEVITSKY, S., E.D. MULLIN, R.E. SLOANE, V.J. FERRANS,
L.M. BUJA, W.M. WILLIAMS, A.G. MORROW
Effects of a hyperosmotic perfusate on extended
preservation of the heart
Circulation 43/44 (Suppl. I) : 124 (1971)

122. LEVY, J.F., H.R. BERNARD, W.F. MONAFO
Isolation and storage of artificially oxygenated
mammalian hearts
J. Amer. Med. Assoc. 191 : 1006 (1965)
123. LIDDICOAT, J.E., E.B. DIETRICH, M.E. DeBAKEY
Cardiac preservation
Rev. Surg. 27 : 447 (1970)
124. LIDLICOAT, J.E.
Cardiac preservation
Rev. Surg. 31 : 54 (1974)
125. LINN, B., M. WOLCOTT, M. KLEMPNER, M. VIAMONTE,
F. GOLLAN
Organic liquids as preservatives for organ storage
In: NORMAN J.C. (Hrsg.): Organ perfusion and preservation, Appleton-Century-Crofts, New York (1968)p.97
126. LIOTTA, D., J.N. ROSS, E. MAYFIELD, G.B. PARULKAR,
C.W. HALL, J.J. GHIDONI, M.E. DeBAKEY
Resuscitation and preservation of the canine heart
for homotransplantation : Preliminary studies
In: NORMAN J.C. (Hrsg.): Organ perfusion and preservation, Appleton-Century-Crofts, New York (1968) p.251
127. LOCKE, F.S.
Die Wirkung der Metalle des Blutplasmas und verschiedener Zucker auf das isolirte Säugethierherz
Centralbl. f. Physiol. 14 : 670 (1901)
128. LOCKE, F.S., O. ROSENHEIM
Contribution to the physiology of the isolated heart.
The consumption of dextrose by mammalian cardiac muscle
J. Physiol. (London) 36 : 205 (1907/08)

129. LOWER, R.R., R.C. STOFER, E.J. HURLEY, E. DONG,
R.B. COHN, N.E. SHUMWAY
Successful Homotransplantation of the canine heart
after anoxic preservation for seven hours
Amer. J. Surg. 104 : 302 (1962)
130. LOWER, R.R.
Prospects of heart transplantation today
Excerpta Medica Foundation, Amsterdam (1969) p. 238
131. LYONS, G.W., R.H. DIETZMANN, R.C. LILLEHEI
On the mechanism of preservation with hypothermia
and hyperbaric oxygen
Trans. Amer. Soc. Artif. Intern. Organs 12 : 236 (1966)
132. MAGINN, R.R., E. HADJIMICHAELIS
Pretransplant cardiac viability assays
In: NORMAN J.C. (Hrsg.): Organ perfusion and preservation,
Appleton-Century-Crofts, New York (1968) p.505
133. MALININ, G.I., R.M. NARDONE, J.A. PANUSKA
Quantitative changes in myocardial nucleic acids
and protein during normothermic and hypothermic
pulsatile perfusion with bloodless fluid
J. Mol. Cell. Cardiol. 6 : 1 (1974)
134. MALININ, T.I., V.P. PERRY
A review of tissue and organ viability assay
Cryobiology 4 : 104 (1967)
135. MALININ, T.I.
Perfusion of monkey hearts with exsanguinous fluid
at different temperatures
Cryobiology 6 : 273 (1969)

136. MALININ, T.I., V.P. PERRY
Perfusion of isolated monkey hearts with bloodless
fluids and cryoprotective agents
Cryobiology 6 : 274 (1969)
137. MANAX, W.G., J.H. BLOCH, Z. EYAL, G.W. LYONS,
R.C. LILLEHEI
Hypothermia and hyperbaria - Simple method for
whole organ preservation
J. Amer. Med. Assoc. 192 : 755 (1965)
138. MANAX, W.G., G.W. LYONS, Z. EYAL, R.C. LILLEHEI
Cervical heart homotransplantation
Surgery 58 : 835 (1965)
139. MANAX, W.G., F. LARGIADER, R.C. LILLEHEI
Whole canine organ preservation. Prolongation in vitro
by hypothermia and hyperbaria
J. Amer. Med. Assoc. 196 : 1121 (1966)
140. MANAX, W.G., Z. EYAL, R.C. LILLEHEI
Observations on the homotransplanted canine heart
following in vitro storage by hypothermia and hyper-
baric oxygen
Vasc. Surg. 1 : 30 (1967)
141. MANAX, W.G.
Cellular anoxic injury during in vitro tissue
preservation
Cryobiology 6 : 274 (1969)
142. MANDELBAUM, I., J. BERRY, M. SILBERT, W.H. BURNS,
C. ROTHE
Regional blood flow during pulsatile and nonpulsatile
perfusion
Arch. Surg. 91 : 771 (1965)

143. MARCHIORO, T.L., R.T. HUNTLEY, W.R. WADDELL, T.E. STARZL
Extracorporeal perfusion for obtaining postmortem
homografts
Surgery 54 : 900 (1963)
144. MARCUS, E., S.N. WONG, A.A. LUISADA
Homologous heart grafts. I. Technique of interim
parabiotic perfusion. II. Transplantation of the
heart in dogs
A.M.A. Arch. Surg. 66 : 179 (1953)
145. MARTIN, D.R., D.F. SCOTT, G.L. DOWNES, F.O. BELZER
Primary cause of unsuccessful liver and heart pre-
servation: cold sensitivity of the ATPase system
Ann. Surg. 175 : 111 (1972)
146. MATTHEW, S.A., D.E. JACKSON
The action of magnesium sulphate upon the heart and
the antagonistic action of some other drugs
Amer. J. Physiol. 19 (1907)
147. McLEAN, F.C., A.B. HASTINGS
The state of calcium in the fluids of the body:
1. The conditions affecting the ionisation of calcium
J. Biol. Chem. 108 : 285 (1935)
148. MEESSEN, H.
Comparative morphological and functional investigations
of the surviving atrium of the guinea pig
Cardiology (Basel) 56 : 357 (1971/72)
149. MELNICK, P.J.
Histochemical enzyme procedures in viability assay
of tissues and organs
Cryobiology 4 : 136 (1967)

150. MELROSE, D.G., B. DREYER, H.H. BENTALL, J.B.E. BAKER
Elective cardiac arrest. Preliminary communication
Lancet 2 : 21 (1955)
151. MENDLER, N.
Metabolit- und Elektrolytveränderungen im Gehirn der
Ratte nach Kühlung auf $4-2^{\circ}\text{C}$ mit einer Herzlungen-
maschine
Z. ges. exp. Med. 146 : 206 (1968)
152. MENDLER, N., F. SEBENING, K.P. THEOBALD
Die Wirkung von Kalium-Magnesium-Aspartat auf den
Energiestoffwechsel im ischämischen Myokard
In: BEER R., FINSTERER U. (Hrsg.): Biochemische
Eigenschaften und Möglichkeiten der klinischen An-
wendung von Kalium-Magnesium-Aspartat
Arzneim.-Forsch., 22. Beiheft, p. 66 (1971)
153. MENDLER, N., S. HAGL, F. SEBENING, K.P. THEOBALD
Metabolite des Energiestoffwechsels im parabetotisch
perfundierten Rattenherzen während und nach Kardio-
plegie durch Ischämie, Kaliumchlorid und Kalium-
Magnesium-Aspartat
Arzneim.-Forsch. 22 : 909 (1972)
154. MENDLER, N., K. MOTTHAGY, R. SCHRÖCK, H. SCHMID-
SCHÖNBEIN, F. SEBENING
A fluid oxygenator using shear flow dispersion
of blood in fluorocarbon
In: DAVIDS S.G., H.C. ENGELL (Hrsg.): Advances in
oxygenator design, 1975
155. MESSMER, K., W. BRENDL, H.J. REULEN, K.J. NORDMANN
Elektrolytveränderungen in tiefer Hypothermie
III. Beziehungen zur biologischen Überlebenszeit
bei künstlichem Kreislauf
Pflügers Arch. ges. Physiol. 288 : 240 (1966)

156. MINES, G.R.
On functional analysis by the action of electrolytes
J. Physiol. (London) 46 : 188 (1913)
157. MIRKOVITCH, V., M. HAROUD
Conservation d'organes et de tissus sous condition
d'hypothermie et d'oxygène hyperbare
Rev. Med. Suisse Rom. 88 : 667 (1968)
158. MONROE, R.G., C.G. LaFARGE, W.J. GAMBLE, S. HONDA,
S.V. KEVY
Ventricular performance and coronary flow of isolated
hearts when perfused through isolated lungs or
membrane oxygenators
In: NORMAN J.C. (Hrsg.): Organ perfusion and preser-
vation, Appleton-Century-Crofts, New York (1968) p.779
159. MÜNCHEN, I.
Aspartate - Zur klinischen Bedeutung von Inzolen
Bremen (1974)
160. NAKAE, S., W.R. WEBB, K.E. SALYER, M.O. UNAL,
W.A. COOK, R.P. DODDS
Extended survival of the normothermic anoxic heart
with metabolic inhibitors
Ann. Thorac. Surg. 3 : 37 (1967)
161. NAKAYAMA, K., T. TAMIYA, K. YAMAMOTO, T. IZUMI,
S. AKIMOTO, S. HASHIZUME, T. IIMORE, M. ODAKA,
C. YAZAWA
High amplitude pulsatile pump in extracorporeal cir-
culation with particular reference to hemodynamics
Surgery 54 : 798 (1963)

162. OFFERIJNS, F.G.J., G.E. FREUD, H.W. KRIJNEN
Reanimation of myocardial cells preserved in the
frozen state
Nature 222 : 1174 (1969)
163. OFFERIJNS, F.G.J.
Preservatie van het hart
Nederl. T. Geneesk. 114 : 109 (1970)
164. OFFERIJNS, F.G.J.
Experiments on long-term preservation of rat heart
Brit. Heart J. 33 : 149 (1971)
165. OFFERIJNS, F.G.J.
Organ preservation, past and future
Vox Sang. 20 : 193 (1971)
166. OFFERIJNS, F.G.J., H.W. KRIJNEN
The preservation of the rat heart in the frozen state
Cryobiology 9 : 289 (1972)
167. PARK, C.R., J. BORNSTEIN, R.L. POST
Effect of insulin on free glucose content of rat
diaphragm in vitro
Amer. J. Physiol. 182 : 12 (1955)
168. PARULKAR, G.B., D. LIOTTA, S.R. PANDAY, P.K. SEN,
R.D. BLOODWELL, G.L. HALLMANN, D.A. COOLEY
Closed chest partial extracorporeal perfusion for
preservation of cardiac grafts
In: NORMAN J.C. (Hrsg.): Organ perfusion and preser-
vation, Appleton-Century-Crofts, New York (1968) p.439

169. PAUSESCU, E., S. CARNARU, V. BERONIADE, V. PAUNESCU, R. CHIRVASIE
Kidney preservation in a hypothermic "cytoplasmic" solution before transplantation
In: CAMERON J.S. (Hrsg.): Dialysis and renal transplantation, 9 th Conference, European Dialysis and Transplant Association, Florenz, 1972
170. PENPARGKUL, S., J. SCHEUER
Metabolic comparisons between hearts arrested by calcium deprivation or potassium excess
Amer. J. Physiol. 217 : 1405 (1969)
171. PERACCHIA, A., E. ANCONA, P. FRASSON, G. TONINI, C. TREMOLADA, G.C. ROVIARO
Conservazione di cuore nel ratto
Minerva Chir. 28 : 271 (1973)
172. PERRY, V.P., C.A. LINDBERGH, T.I. MALININ, G.H. MOUER
Pulsatile perfusion of whole mammalian organs
In: NORMAN J.C. (Hrsg.): Organ perfusion and preservation, Appleton-Century-Crofts, New York (1968) p.203
173. PITZELE, S., E.J.P. CHARRETTE, A.R.C. DOBELL, L.D. MacLEAN
Method and apparatus for functional evaluation of isolated hearts
Surgery 64 : 308 (1968)
174. PITZELE, S., A.R.C. DOBELL
Functional evaluation of isolated heart at normo-thermia and following 8-hour preservation at 30°C
In: NORMAN J.C.(Hrsg.): Organ perfusion and preservation, Appleton-Century-Crofts, New York (1968) p.513

175. PITZELE, S.
Important factors in extracorporeal organ support
with special reference to the heart
Can. J. Surg. 14 : 100 (1971)
176. PITZELE, S., S. SZE, A.R.C. DOBELL
Hypothermic plasma perfusion of the isolated heart
Surgery 70 : 407 (1971)
177. PITZELE, S., S. SZE, A.R.C. DOBELL
Functional evaluation of the heart after storage
under hypothermic coronary perfusion
Surgery 70 : 569 (1971)
178. PROCTOR, E., R. PARKER
Preservation of isolated heart for 72 hours
Brit. Med. J. 4 : 296 (1968)
179. PROCTOR, E.
Storage of isolated heart
Laval Med. 41 : 199 (1970)
180. PROCTOR, E., G. MATTHEWS
A simple method for short-term (6-hour) transport
of the dog heart prior to orthotopic transplantation
Thorax 25 : 477 (1970)
181. PROCTOR, E., G. MATTHEWS, J. ARCHIBALD
Acute orthotopic transplantation of hearts stored
for 72 hours
Thorax 26 : 99 (1971)
182. PROCTOR, E.
Preservation of the dog heart for 96 hours at 4°C
Brit. J. Surg. 58 : 306 (1971)

183. PROCTOR, E.
Early sinus rhythm in dog hearts preserved for 96 hr
and assessed ex vivo
Transplantation 13 : 437 (1972)
184. PROCTOR, E., G.R.N. JONES
In vitro Assessment of preserved dog hearts, with
some reference to preserved dog kidneys
In: PEGG D.E. (Hrsg.): Organ preservation - A sym-
posium held at the Clinical Research Centre, North-
wick Park Hospital, Harrow.
Churchill Livingstone, Edinburgh, London (1973) p. 216
185. RAPATZ, G.
Some problems associated with the freezing of hearts
Cryobiology 7 : 157 (1970)
186. REDO, S.F.
An evaluation of various cardioplegic methods
utilizing isolated guinea pig hearts
Surg. Gynec. Obstet. 108 : 211 (1959)
187. REDO, S.F., F. GLENN, S. DIME
An evaluation of the function of guinea pig hearts,
removed after death
J. Surg. Res. 2 : 300 (1962)
188. REDO, S.F., S. DIME
Function of isolated perfused guinea pig hearts
stored under various conditions
Arch. Surg. 92 : 269 (1966)
189. REULEN, H.J., P. AIGNER, W. BRENDL, K. MESSMER
Elektrolytveränderungen in tiefer Hypothermie
I. Die Wirkung akuter Auskühlung bis 0°C und
Wiedererwärmung
Pflügers Arch. ges. Physiol. 288 : 197 (1966)

190. RING, K., E. GRIMM, M. SCHWARZ
Wechselwirkungen zwischen L-Aspartat und Kaliumionen
beim Transport in lebende Zellen
In: KRONSCHWITZ H. (Hrsg.): Kalium-Magnesium-Zink-
Aspartat, 15. Kolloquium, Frankfurt/Main (1975) p. 3
191. RINGER, S.
A further contribution regarding the influence of the
different constituents of the blood on the contraction
of the heart
J. Physiol. (London) 4 : 29 (1883)
192. RINGER, S.
A third contribution regarding the influence of the
inorganic constituents of the blood on the ventri-
cular contraction
J. Physiol. (London) 4 : 222 (1883)
193. RINGER, S.
Further experiments regarding the influence of small
quantities of lime potassium and other salts on
muscular tissue
J. Physiol. (London) 7 : 291 (1886)
194. ROBERTSON, R.D., P. DESHPANDE, L. SLEGEL, S.W. JACOB
Studies on the function of the canine heart exposed
to sub-zero temperatures
J. Amer. Med. Assoc. 187 : 574 (1964)
195. ROBICSEK, F., P.W. SANGER, F.H. TAYLOR
Simple method of keeping the heart "alive" and
functioning outside the body for prolonged periods
Surgery 53 : 525 (1963)
196. ROBICSEK, F., A. LESAGE, P.W. SANGER, H.K. DAUGHERTY,
V. GALLUCCI, E. BAGBY
Transplantation of "live" hearts
Amer J. Cardiol. 20 : 803 (1967)

197. ROBICSEK, F., J.R. PRUITT, P.W. SANGER, H.K. DAUGHERTY,
M. MOORE, E. BAGBY
The maintenance of function of the donor heart in the
extracorporeal stage and during transplantation
Ann. Thorac. Surg. 6 : 330 (1968)
198. ROSEN, H., McCALLUM, J. BLUMENTHAL, H. AGESBORG
Effects of potassium and magnesium aspartates on the
isolated guinea pig heart
Arch. Int. Pharmacodyn. 147 : 476 (1964)
199. RUSSELL, J.C., D.M. PEACH
The temperature dependence of $(Na^{+} + K^{+}) - ATPase$
Physiol. Chem. & Physics 6 : 225 (1974)
200. RUSSELL, P.S.
Heart transplantation: some general remarks
Amer. J. Cardiol. 22 : 762 (1968)
201. SCHAUDIG, A., H.G. BORST
Anwendungsmöglichkeiten und Technik der Kardioplegie
bei Herzeingriffen
Internist 6 : 546 (1965)
202. SCHMIDT, E., F.W. SCHMIDT
Aspekte der Enzymdiagnostik
Sonderdruck der Fa. Boehringer, Mannheim
203. SCHÖPF-EBNER, E., W.O. GROSS, O.M. BUCHER
Pulsatile activity of isolated heart muscle cells
after freezing storage
Cryobiology 4 : 200 (1968)
204. SEBENING, F., D.M. ENERSON, J.F. NEVILLE
Über die anoxische Rezirkulation des Koronarbluts
Arzneim.-Forsch. 13 : 636 (1963)

205. SEBENING, F.
Über klinische und experimentelle Untersuchungen des
Myokardstoffwechsels während der operativen Korrektur
von Herzfehlern
Langenbecks Arch. klin. Chir. 317 : 169 (1967)
206. SEBENING, F. E. STRUCK, B. REYMANN
Kalium-Substitution durch Kalium-Lactat oder
-Asparaginat bei Operationen mit Hilfe der Herz-
Lungen-Maschine
Arzneim.-Forsch. 18 : 347 (1968)
207. SEN, A.K., R.L. POST
Stoichiometry and localization of adenosine tri-
phosphatase dependent sodium and potassium transport
in the erythrocyte
J. Biol. Chem. 239 : 345 (1964)
208. SEN, P.K., C.B. SHAH, R.S. SATASKAR
Studies on isolated heart-lung-preparations in the
hypothermic animal
J. Int. Coll. Surg. 26 : 32 (1956)
209. SHLAFFER, M., A.M. KAROW
Ultrastructure-function correlative studies for
cardiac cryopreservation. I. Hearts perfused with
various concentrations of dimethyl sulfoxide (DMSO)
Cryobiology 8 : 280 (1971)
210. SHLAFFER, M., A.M. KAROW
Ultrastructure-function correlative studies for
cardiac cryopreservation. II. Hearts frozen to
various temperatures without a cryoprotectant
Cryobiology 8 : 350 (1971)

211. SISKÁ, K., V. HOLEC, M. FEDELESOVÁ, A. ZIEGELHÖFFER,
J. SLEZÁK, J. STYK, J. PETRAS, V. TREGEROVÁ
Investigations of heterotopically transplanted dog
hearts after preservation
Transplantation 9 : 93 (1970)
212. SKINNER, D.B., M.H. NEWMAN, R.A. SQUIRE
Preservation and transplantation of dog organs main-
tained in vivo for 24 hours by mechanical ventricular
assistance
J. Surg. Res. 10 : 253 (1970)
213. SKOU, J.C.
Enzymatic basis for active transport of Na^+ and K^+
across cell membrane
Physiol. Rev. 45 : 596 (1965)
214. SLAPÁK, M., R.A. WIGMORE, R. DEMERS, A.K. CHANDRASAKERAM,
J.G. BEAUDOIN, G. MALAVE, L.D. MacLEAN
Asanguinous perfusion preservation of canine liver
and heart using a simple manuable portable apparatus
Transplant. Proc. 1 : 147 (1969)
215. SØNDERGAARD, T., A. SENN
Klinische Erfahrungen mit der Kardioplegie nach
Bretschneider
Langenbecks Arch. klin. Chir. 319 : 661 (1967)
216. SORDAHL, L.A., J.E. LIDDICOAT, E.B. DIETRICH,
B. SILVER, M.E. DeBAKEY, A. SCHWARTZ
Respiratory activity of mitochondria from isolated
human and dog hearts maintained in a portable
preservation chamber
J. Mol. Cell. Cardiol. 1 : 379 (1970)

217. SPIECKERMANN, P.G.
Überlebens- und Wiederbelebenszeit des Herzens
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1973)
218. STAIB, I., M. KRETZSCHMAR
Messung der Elektrolytkonzentration in verschiedenen
Gewebearten der Ratte nach Verabreichung von Kalium-
Magnesium-Aspartat
Arzneim.-Forsch. 18 : 342 (1968)
219. STARLING, E.H.
Linacre lecture on the law of the heart
Cambridge 1915
Longmans, Green & Co., London(1918)
220. STARLING, J.R., L.E. RUDOLF, W. FERGUSON,
S.L. WANGENSTEEN
Benefits of methylprednisolone in the isolated per-
fused organ
Ann. Surg. 177 : 566 (1973)
221. STINSON, E.B., E. DONG, W.W. ANGELL, N.E. SHUMWAY
Myocardial hypothermia for cardiac transplantation
Laval Med. 41 : 195 (1970)
222. STOCKMANN, U., A. JÜLCH
Vergleichende Untersuchungen der Herzkonservierung
Wiederbelebung-Organersatz-Intensivmedizin 8 : 37 (1971)
223. STOCKMANN, U., B. LIEPE, F. WALLNER, E.S. BÜCHERL
Organ preservation: A comfortable experimental
storage system for rat hearts
Trans. Amer. Soc. Artif. Intern. Organs 27 : 49 (1971)

224. SUAUDEAU, J., J. WANGATTA, R. LATREILLE
Conservation de coeur isolé durant 48 heures par
perfusion pulsatile avec un liquide artificiel a 4°C
J. Chir. (Paris) 100 : 527 (1970)
225. SUAUDEAU, J., M. SERVOZ-GAVIN, F. MOREL
Conservation de coeur isolé pendant 72 heures par
perfusion hypothermique avec un liquide de perfusion
synthétique
J. Chir. (Paris) 105 : 573 (1973)
226. SUROS, J., J.E. WOODS
Twenty-four-hour preservation of the canine heart
J. Surg. Res. 16 : 672 (1974)
227. SUTHERLAND, T.M., D.A.B. YOUNG
Increased permeability of the capillaries of the rat
heart to plasma albumin with asphyxiation and with
perfusion
J. Physiol. (London) 183 : 112 (1966)
228. TAHERI, S.A. M.D. MASER, F.G. STOESEER
Canine heart storage under hyperbaric and hypothermic
conditions
Angiology 19 : 573 (1968)
229. TAM, W., F. ROBICSEK, H.K. DAUGHERTY
The autoperfusing heart-lung preparation: a vehicle
for the preservation of the resuscitated cadaver heart
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 58 : 879 (1969)
230. TAM, W., F. ROBICSEK, H.K. DAUGHERTY, D.C. MULLEN
Autoperfusing heart-lung preparation: prolonged
survival by extracorporeal symbiosis
Transplant. Proc. 3 : 640 (1971)

231. THAUER, R., W. BRENDDEL
Hypothermie
Progr. Surg. 2 : 73 (1962)
232. THEOBALD, F.
Der myokardiale Energie- und Elektrolytstoffwechsel
konservierter Herzen nach hypothermer Lagerung und
Perfusion
München, Med. Diss. 1975
233. TÖRÖK, B., E. RÜTH
Versuche zur Konservierung von Nieren unter Anwendung
von Kalium-Magnesium-Aspartat
Arzneim.-Forsch. 24 : 1286 (1974)
234. TRUNKEY, D., T. DeGENHARDT, C. CHARTRAND, J.P. PRYOR,
F.O. BELZER
Preservation of canine hearts
Cryobiology 6 : 515 (1970)
235. UHLSCHMID, G.K., F. LARGIADER
Parabiotische Perfusion zur Beurteilung der Reanima-
bilität und Vitalerhaltung von Kadaverherzen
Thoraxchirurgie 18 : 523 (1970)
236. VAHLENSIECK, W., S. GÖDDE, K.J. PAQUET, M. SIEDEK,
J. CERNY, D. ALBRECHT
Konservierung von Organtransplantaten
Z. Kreisl. Forsch. 4 (Suppl.) : 62 (1967)
237. VIRNO, F., A. AUREGGI, E. BRUNETTI
Omotrapianto ortotopico di cuore dopo conservazione
"in vitro" per 12 ore (Ricerca sperimentale sul cane)
Bull. Soc. Int. Chir. 28 : 224 (1969)

238. VISHNEVSKY, A.A., V.F. PORTNOY
About perfusional method of isolated heart preservation
before its transplantation
Laval Med. : 210 (1970)
239. WARBURG, O.
Versuche an überlebendem Carcinomgewebe (Methoden)
Biochem. Ztschr. 142 : 317 (1923)
240. WEBB, W.R., H.S. HOWARD
Restoration of function of the refrigerated heart
Surg. Forum 8 : 302 (1958)
241. WEBB, W.R., R.P. DODDS, A.M. KAROW, W.A. COOK
Metabolic inhibitors of perfused rat hearts
Circulation 32 (Suppl. II) : 216 (1965)
242. WEBB, W.R., R.P. DODDS, M.O. UNAL, A.M. KAROW,
W.A. COOK, C.R. DANIEL
Suspended animation of the rat heart with metabolic
inhibitors; effect of magnesium sulfate or fluoride
and adrenochrome in rats
Ann. Surg. 164 : 343 (1966)
243. WEBB, W.R.
Viability assay at the organ functional level
Cryobiology 4 : 130 (1967)
244. WEBB, W.R., F.X. JONES, W.L. SUGG
Magnesium transmembrane potentials
Fed. Proc. 27 : 579 (1968)
245. WEBB, W.R., W.L. SUGG, R.R. ECKER
Heart preservation and transplantation. Experimental
and clinical studies
Amer. J. Cardiol. 22 : 820 (1968)

246. WEBB, W.R., S.D. WAX, F.X. JONES, T. KAMIYAMA,
W.L. SUGG, R.R. ECKER
Metabolic inhibitors in preservation
In: NORMAN J.C. (Hrsg.): Organ perfusion and preservation, Appleton-Century-Crofts, New York (1968) p.121
247. WEBB, W.R.
Cardiac preservation. Current methods
Cryobiology 5 : 423 (1969)
248. WELLS, P.H., S. PHALAKORNKUL, H.W. RAMSEY, M.W. WHEAT
Cardiac function after prolonged storage in an intermediate biologic host
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 62 : 869 (1971)
249. WILDEVUUR, C.R.H., J.R.G. KUIPERS, I. ONODERA
Reliable method for preservation and transportation of donor heart
Transplant. Proc. 3 : 643 (1971)
250. WILLMAN, V.L., H.B. BARNER
Anatomical and physiological considerations in cardiac preservation
Cryobiology 5 : 413 (1969)
251. WOODS, J.E., G.A. FLEISHER, B.L. HIRSCH
Five-day perfusion of canine kidneys: a postulated effect of steroids
Transplant. Proc. 6 : 255 (1974)
252. YAMADA, T., L.H. BOSHER, G.M. RICHARDSON
Observations on the autoperfusing heart-lung-preparation
Trans. Amer. Soc. Artif. Intern. Organs 11 : 192 (1965)

253. ZIEGELHÖFFER, A.

Metabolic studies on heart preservation. The influence of some exogenous substrates under hypothermic and hyperbaric conditions

J. Mol. Cell. Cardiol. 2 : 173 (1971)

7. ANHANG ZUR VERSUCHSAUSWERTUNG

Für die dreidimensionale Darstellung der Ergebnisse aus den Gruppen IV und V (vgl. 2.3. sowie 3.4. und 3.5.) wurden spezielle FORTRAN IV - Programme entwickelt. In diese Programme wurden die am LEIBNIZ-Rechenzentrum der Bayerischen Akademie der Wissenschaften vorhandenen Routinen KERN 3 D und CUBNAT implementiert. Das Programm KERN 3 D dient zur perspektivischen Darstellung (Zentralprojektion) einer eindeutigen Funktion von 2 Variablen $z = f(x, y)$. Verdeckte Linien werden dabei unterdrückt. Die Stützpunkte der Argumente (hier Zeit und pH bzw. Perfusionsdruck) müssen äquidistant sein. Diese Bedingung wurde im Falle der Darstellung der klinisch-chemischen Parameter (kcP) dadurch erfüllt, daß innerhalb der Beziehungen

$$C \text{ (kcP)} = f(t) \quad (y\text{-}z\text{-Ebene) und}$$

$$C \text{ (kcP)} = f(\text{pH bzw. } P_{\text{Perf}}) \quad (x\text{-}z\text{-Ebene)}$$

linear interpoliert wurde.

Bei der Darstellung der Funktionskurven in Abhängigkeit vom pH-Wert wurde innerhalb der Beziehungen

$$\text{LVP} = f(\text{pH}) \quad \text{bzw.}$$

$$\text{LVedP} = f(\text{pH}) \quad (x\text{-}z\text{-Ebene)}$$

linear, innerhalb der Beziehungen

$$\text{LVP} = f(\text{LVedP}) \quad \text{bzw.}$$

$$\text{LVedP} = f(\text{LVV/HW}) \quad (y\text{-}z\text{-Ebene)}$$

spline interpoliert.

Bei der splinen Interpolation wird zu monoton geordneten unabhängigen Variablen x (hier: LVedP bzw. LVV/HW) das Bild einer Funktion gezeichnet, d.h. zu jedem x - (LVedP- bzw. LVV/HW-) Wert gehört genau ein y - (LVP- bzw. LVedP-) Wert. Diese Funktion ist in jedem Intervall $x_1 \leq x \leq x_{i+1}$ durch ein kubisches Polynom gegeben, wobei alle diese Polynomstücke so aneinander gefügt sind, daß $y(x)$, $y'(x)$

und $y''(x)$ überall stetig ist. Ferner gilt:

$$y''(x_0) = y''(x_n) = 0$$

(x_0 ist der kleinste, x_n der größte Wert).

Ist die Funktion auf das Intervall $x_0 \leq x \leq x_n$ beschränkt, spricht man von einer kubischen spline-Funktion vom Typ II₀. Durch die Wahl dieser Interpolationsfunktion wird jedes gemessene Wertetripel tatsächlich in den Kurvenzug einbezogen (im Gegensatz etwa zu polynomen Regressionen), wobei die entstehende Kurve eine stetige erste und zweite Ableitung aufweist, mithin keine Sprünge oder Knicke, sondern sogar stetige Krümmungen. Als weiterer Vorteil mag gelten, daß bei kleiner Verschiebung eines Wertetripels gegenüber der Umgebung sich die gezeichnete Kurve nur in der unmittelbaren Umgebung des Punktes merklich ändert.

Zur optimalen Ausnutzung der verfügbaren Bildschirmfläche wurde vor der Projektion eine Koordinatentransformation vorgenommen, derart, daß das Intervall in x- und y-Richtung gleich groß ist und der Ursprung des Koordinatensystems in den Intervallmittelpunkt zu liegen kommt. Die Lage des Betrachtungspunkts wird durch den Azimutwinkel α , den Höhenwinkel β und den perspektivischen Faktor Q festgelegt.

α = Winkel zwischen x-Achse und Betrachtungsrichtung

β = Winkel zwischen z-Achse und Betrachtungsrichtung

$Q = d_B / d_{\max}$, wobei d_B der Abstand des Betrachtungspunkts vom Ursprung und $d_{\max}$ der maximale Netzpunktabstand vom Ursprung ist.

In den Abbildungen in 3.4. und 3.5. betrug

$$\alpha = 45^\circ, \quad \beta = 45^\circ \text{ und } Q = 20.$$

Um gegenüber den interpolierten die eigentlichen Meßwerte deutlich zu machen, wurden die entsprechenden Zeitverläufe bzw. Funktionskurven verstärkt nachgezeichnet. Die Abnahmezeiten sowie die jeweiligen pH und P_{Perf} -Werte sind in den Abbildungen durch entsprechende z-Achsen-Parallele gekennzeichnet.

Meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. F. Sebening, darf ich herzlich für die Überlassung des Themas und seine Rats schläge danken.

Herrn Dr. N. Mendler bin ich für seine ständige Unterstützung und Förderung meiner Arbeit sehr zu Dank verpflichtet.

Für ihre Hilfe bei der Durchführung der Versuche bzw. für die biochemischen Bestimmungen danke ich Frau Denkert , Fräulein Schülgen, Frau Frankl, Fräulein Helms sowie Herrn Dr. med. vet. K. Gebhardt, der mich auch mit speziellen Hinweisen bei der Durchführung der Tierversuche unterstützt hat.

Bei Herrn Eiselsberg und Herrn Feil bedanke ich mich für ihr Engagement bei Entwicklung und Bau der Konservierungs einheit.

Herrn Schmid danke ich für seine Mitarbeit bei der Versuchsauswertung.

8. L E B E N S L A U F

Eltern:	Emil Wischnik, Oberamtsrat Franziska Wischnik, geb. Werkmüller
30. 5. 1952	Geboren in München
1958 - 1962	Besuch der Volksschule in München
1962 - 1971	Besuch des Gymnasiums in München Reifezeugnis des Maria-Theresia- Gymnasiums, München
1971	Beginn des vorklinischen Studiums an der Ludwig-Maximilians-Universität, München
1972	Naturwissenschaftliche Vorprüfung
1973	Ärztliche Vorprüfung
1973	Beginn des klinischen Studiums an der Ludwig-Maximilians-Universität, München
1974	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung Beginn der Dissertationsarbeit in der exp. Abteilung des Deutschen Herz- zentrums
1976	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
1976/77	Praktische Ausbildung nach § 3 der Approbationsordnung für Ärzte. Ausbildungsstätten: II. Frauenklinik der Universität (Dir.: Prof. Dr. K. Richter) Med. Klinik II, Klinikum Großhadern (komm. Dir. Prof. Dr. H. J. Karl) II. Chir. Abt. des Städt. Krkh. München- Schwabing (Chefarzt Dr. L. Hofmeister)
1977, Oktober	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung



